

Opinnäytetyö (AMK)

Bioanalytiikka

2013

Kaisaleena Karttunen

HISTOLOGISEN NÄYTTEEN PROSESSI LABORATORIOSSA –OPPIMATERIAALI



TURUN AMMATTIKORKEAKOULU
TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Kaisaleena Karttunen

HISTOLOGISEN NÄYTTEEN PROSESSI LABORATORIOSSA - OPPIMATERIAALI

Histologia eli kudospoppi tutkii kudosten rakenteita sekä toimintaa ja tutkimuksen apuna käytetään yleensä mikroskooppia ja kemiallisia menetelmiä. Preparoitu kudospnäyte laitetaan mahdollisimman nopeasti fiksointiaineeseen, joka estää kudoksen hajoamisen ja mätänemisen. Histologinen prosessi laboratoriossa alkaa näytteen kirjaamisella laboratoriossa käytettävään tietokantaan, josta näytteeseen saadaan yksilöivä tunnistus. Fiksoinnin jälkeen näyte siirretään kudokasetille ja laitetaan kuduskuljetukseen, jossa kudoksista poistetaan vesi ja rasva sekä imeytetään parafiinia. Sitten näyte valetaan parafiiniin, joka tukee näytettä leikkausvaiheessa. Näytteistä leikataan leikkeitä mikrotomilla, minkä jälkeen leike värjätään ja päällystetään.

Hematoksyliini-eosiini-värjäyksessä hapan eosini väri värjää kudoksen emäksiset osat ja emäksinen hematoksyliini väri happamat osat. van Gieson on kollageenivärjäys ja Periodic acid Schiff värjää glykogeeneja ja limat. Peruskudoksia ovat epiteeli-, lihas-, tuki- ja hermokudos. Tuki-kudoksiin kuuluvat rasva-, luu- ja rustokudos sekä varsinainen sidekudos. Kudokset muodostuvat soluista sekä solujen tuottamasta väliaineesta. Lisäksi veri sekä imuneste voidaan ajatella omaksi ryhmäkseen ja niiden erona muihin on liukoinen soluväliaine.

Oppinnäytetyön tarkoitus oli tuottaa oppimateriaali histologisesta prosessista, yleisimmistä värjäyksistä ja peruskudoksista Turun ammattikorkeakoulun bioanalytiikan koulutusohjelmalle ja tämän oppimateriaalin tavoitteena on edistää tulevaisuudessa patologian kurssilla opiskelijoiden oppimista. Oppimateriaali koostuu teoriasta ja sitä havainnollistavista kuvista.

ASIASANAT:

Histologia, kudokset, oppimateriaali

Kaisaleena Karttunen

EDUCATIONAL MATERIAL ABOUT THE PROCESS OF A HISTOLOGICAL SPECIMEN

Histology studies the structures and functions of tissues usually with the help of microscope and chemical methods. At the beginning of tissue processing, a specimen tissue must be first fixed immediately to prevent decaying. At histological laboratory the specimen tissue is identified. After fixation the specimen tissue can be adjusted to tissue cassette and water and fat are removed from the tissue and paraffin is infiltrated. The next stage is to embed the tissue in paraffin. Then the tissue is cut with a microtomy. After cutting a specimen plate is stained and coated.

In hematoxylin and eosin stain alkaline hematoxylin dyes the acid part of a tissue and acid eosin dyes alkaline parts. van Gieson is a collagen stain and Periodic acid Schiff stains glycogen and mucus. Basic tissue types are epithelia, muscle, support and nerve tissues. Support tissues includes adipose, bone, cartilage and connective tissues. Tissues consist of cells and extracellular matrix. Also blood and lymph are considered to be one type of support tissues with liquid extracellular matrix.

The purpose of this thesis was to produce an educational material of histological process, general stains and basic tissues to Turku University of applied sciences in the degree program of biomedical laboratory science. The purpose of this educational material will be to improve learning at the pathology course in the future courses. The educational material consists of theory and illustrative pictures.

KEYWORDS:

Histology, tissues, educational material

SISÄLTÖ

1 JOHDANTO	7
2 OPPIMATERIAALI	8
3 HISTOLOGIA	9
3.1 Kudoksen kiinnittäminen eli fiksaatio	9
3.2 Kirjaaminen	10
3.3 Näytteiden esikäsittely	11
3.4 Dekalsifointi	12
3.5 Kudoksen kuljetus eli kudosprosessointi	13
3.6 Valaminen	14
3.7 Leikkaaminen	18
3.8 Jääleikkeet	25
3.9 Värjäys ja päällystäminen	25
3.10 Yleisimmät histologiset värit	27
3.10.1 Hematoksyliini-eosiini (H&E)	27
3.10.2 Weigert-van Gieson (VG)	28
3.10.3 Periodic acid Schiff (PAS)	29
4 PERUSKUDOKSET	31
4.1 Epiteelit	31
4.1.1 Yksikerroksiset epiteelit	31
4.1.2 Kerrostuneet epiteelit	36
4.2 Rauhaset	41
4.3 Sidekudokset eli tukikudos	43

4.3.1 Varsinainen sidekudos	44
4.3.2 Rasvakudos	45
4.3.3 Rustokudos	46
4.3.4 Luukudos	48
4.3.5 Hermokudos	50
4.3.5.1 Hermosolun eli neuronin rakenne	50
4.3.5.2 Myelinisaatio	51
4.3.5.3 Keskushermosto	52
4.3.5.4 Isoaivot	52
4.3.5.5 Selkäydin	52
4.3.5.6 Aivokalvot	52
4.3.5.7 Aivo-selkäydinneste eli likvori	53
4.3.5.8 Ääreishermosto	53
4.3.6 Lihaskudos	54
4.3.6.1 Poikkijuovainen lihaskudos	54
4.3.6.2 Sileä lihaskudos	56
4.3.6.3 Sydänlihaskudos	58
4.3.6.4 Hermo-lihasliitos	59
4.4 Imukudos eli lymfaattinen kudos	59
4.4.1 Imusuonet ja imusolmukkeet	59
4.4.2 Perna	60
4.4.3 Kateenkorva	61
5 TAVOITE JA TARKOITUS	63
6 OPINNÄYTETYÖN KÄYTÄNNÖN TOTEUTUS	63
6.1 Oppimateriaalin tekeminen	63
6.2 Metodiset ratkaisut	64
6.3 Tutkimusetiikka	64
7 OPINNÄYTETYÖN TUOTOKSEN TARKASTELU	66
8 POHDINTA	67
LÄHTEET	68

KUVAT

Kuva 48. Hermosolu- eli neuronityypit.	50
Kuva 50. Aivokalvot.	53

TAULUKKO

Taulukko 1. Patologian laboratoriossa kudoksenäytteen prosessi.

9

1 JOHDANTO

Opinnäytetyö käsittelee histologisen näytteen prosessia laboratoriossa ja sen esittämistä oppimateriaaliksi. Patologia yhdistää monen eri alan tietoa sairauksista ja siihen pohjautuvat myös sairauksien hoidossa käytettävät hoitomenetelmät (Mäkinen & Lehto 2012). Turun yliopistollisessa keskussairaalassa tehdään vuosittain noin 25 000 kudoksenäytteestä tutkimuksia (Varsinais-Suomen sairaanhoitopiiri 2012).

Opinnäytetyön tarkoitus on tuottaa kuvallinen oppimateriaali histologisesta prosessista, tavallisimmista värjäyksistä ja peruskudoksista Turun ammattikorkeakoululle ja tavoitteena on tulevaisuudessa edistää patologian kurssilla opiskelijoiden oppimista. Opinnäytetyön aihe on saatu Turun ammattikorkeakoulun opettajalta Sanna Virtaselta.

2 OPPIMATERIAALI

Oppimateriaalilla tarkoitetaan oppiainesta käsittävää tietolähdettä, kuten oppikirjaa tai käsiteltävää materiaalia, kuten diaa (Uusikylä & Atjonen 2005; Hellström 2008). Toisen määritelmän mukaan oppimateriaali on opiskeltavaan aineeseen tai materiaan liitettyä oppiainesta, jonka avulla oppijassa syntyy tavoitteiden mukaiset pysyvät tietojen, taitojen ja tunteiden muutokset (Uusikylä & Atjonen 2005). Oppimateriaali on osa fyysistä ja pedagogista oppimisympäristöä (Hellström 2008) ja sen suunnittelussa kannattaa miettiä esimerkiksi kurssin tavoitetta ja lukijaa (Oulun yliopisto 2007b).

Oppimateriaalit voidaan jakaa kirjalliseen oppimateriaaliin, esimerkiksi kurssi- ja oppikirjat, visuaaliseen oppimateriaaliin, esimerkiksi valokuvat, auditiiviseen oppimateriaaliin, kuten levyt, digitaaliseen oppimateriaaliin, esimerkiksi internet-sivut, audiovisuaaliseen oppimateriaaliin, muun muassa videot sekä muihin oppimateriaaleihin, esimerkiksi pelit (Uusikylä & Atjonen 2005; Oulun yliopisto 2007a). Digitaalinen muoto mahdollistaa kirjallisen, visuaalisen, auditiivisen sekä audiovisuaalisen materiaalin käytön samanaikaisesti (Uusikylä & Atjonen 2005).

3 HISTOLOGIA

Histologia eli kudospoppi tutkii kudosten rakenteita ja toimintaa. Kudoksia tutkitaan yleensä mikroskoopin ja kemiallisten menetelmien avulla. (Stevens & Lowe 2005; Kustannus Oy Duodecim 2012.) Taulukossa 1 on esitetty kudosnäytteelle tehtävät vaiheet patologian laboratoriossa.

Taulukko 1. Patologian laboratoriossa kudosnäytteen prosessi (Mäkinen 2012).

Vaihe	Kesto
1. Näytteen kirjaaminen laboratoriotietokantaan	Saapumispäivä
2. Fiksaatio	Yön yli
3. Näytteen esikäsittely <ul style="list-style-type: none"> Pienet näytteet: orientointi suoraan kasetille Suuret näytteet: käyntiinpano 	2. päivä
4. Kudoskuljetus	Yön yli
5. Parafiiniin valu	3. päivä
6. Blokkien leikkaaminen	3.-4. päivä
7. Leikkeiden värjäys, päällystys ja tarkistus	3.-5. päivä

3.1 Kudoksen kiinnittäminen eli fiksaatio

Fiksointi estää kudoksen autolyysin eli solujen tuhoutumisen entsyymien toiminnan takia ja mikrobien aiheuttaman mätänemisen. Fiksaation tarkoituksena on säilyttää kudoksen rakenne mahdollisimman samankaltaisena kuin se on ollut elävässä kudoksessa. (Kothmaier ym. 2011; Grizzle ym. 2008; Aho 1999.) Kudos myös kovettuu kiinnittämisen vaikutuksesta, jolloin sitä pystytään jatkokäsittelymään helpommin (Aho 1999). Yleisin käytettävä fiksatiivi on 10-prosenttinen formaliini (Kothmaier ym 2011; Grizzle ym. 2008).

Hyvän fiksatiivin vaatimuksena on esimerkiksi, että se toimii eri kudoksilla, säilöö pienet ja suuret kudoksenäytteet, on nopea, halpa, toimii automatisoidussa kuduskuljettimessa ja toimii eri värjäyksien kanssa. Fiksointiaineet saattavat aiheuttaa kudoksen kutistumista, turpoamista tai kovettumista, värien intensiteetin vaihtelua värjäyksissä sekä aiheuttaa artefakteja eli vääriä tutkimuslöydöksiä. Myös molekyylien tai solurakenteiden tuhoutuminen on mahdollista fiksoinnin vaikutuksesta. Kiinnittymisprosessin onnistumisella on tärkeä merkitys myöhemmissä kudosprossin vaiheissa. (Grizzle ym. 2008.)

Fiksointi voidaan tehdä kemiallisin tai fysikaalisin menetelmin. Fysikaalisia menetelmiä ovat esimerkiksi kuumentaminen ja mikroaallot, mutta niitä käytetään yleensä nopeuttamaan muiden fiksatiivien vaikutusta. Kemiallisissa menetelmissä nestemäiset fiksatiivit ovat yleisimpiä. (Grizzle ym. 2008.) Formaliinin hyviä puolia on sen melko nopea kyky fiksoida ja se mahdollistaa monien histologisten jatkomenetelmien käytön (Titford & Horenstein 2005). Huonona puolena on, että antigeenien tunnistaminen heikentyy immunohistokemiallisissa värjäyksissä (Grizzle ym. 2008) ja formaliini on myös myrkyllinen (Kothmaier ym. 2011). Formaliinin lisäksi kemiallisia fiksatiiveja ovat esimerkiksi etanoli, aseton ja metanoli, glutaraldehydi sekä asetaattihappo (Grizzle ym. 2008).

Kudoksen kiinnittymiseen vaikuttaa fiksaatioliuoksen pH, joka on yleensä 6 - 8. Näytteet fiksoidaan tavallisesti huoneenlämpötilassa. (Aho 1999.) Kiinnitteen osmolaalisuus eli väkevyys (Karhumäki ym. 2007) muuttaa solujen muotoa ja vaikuttaa niiden kiinnittymiseen. Konsentraatio eli pitoisuus vaikuttaa myös kiinnittymisprosessissa. Tavallisesti kiinnittymiseen riittää vuorokausi, mutta palan koko vaikuttaa kiinnitysaikaan. Pieneen palaan kiinnite tunkeutuu nopeammin. (Aho 1999.)

3.2 Kirjaaminen

Lähetete ja fiksatiivissa oleva näyte lähetetään patologian laboratorioon. Siellä näytteelle annetaan tietokannasta koodi, jossa on laboratorion tunniste, näytteen tyyppi, vuosi, näytenumero sekä alanumero tai kirjainyhdistelmä, josta ilmenee näyteblokin järjestys. (Mäkinen 2012.)

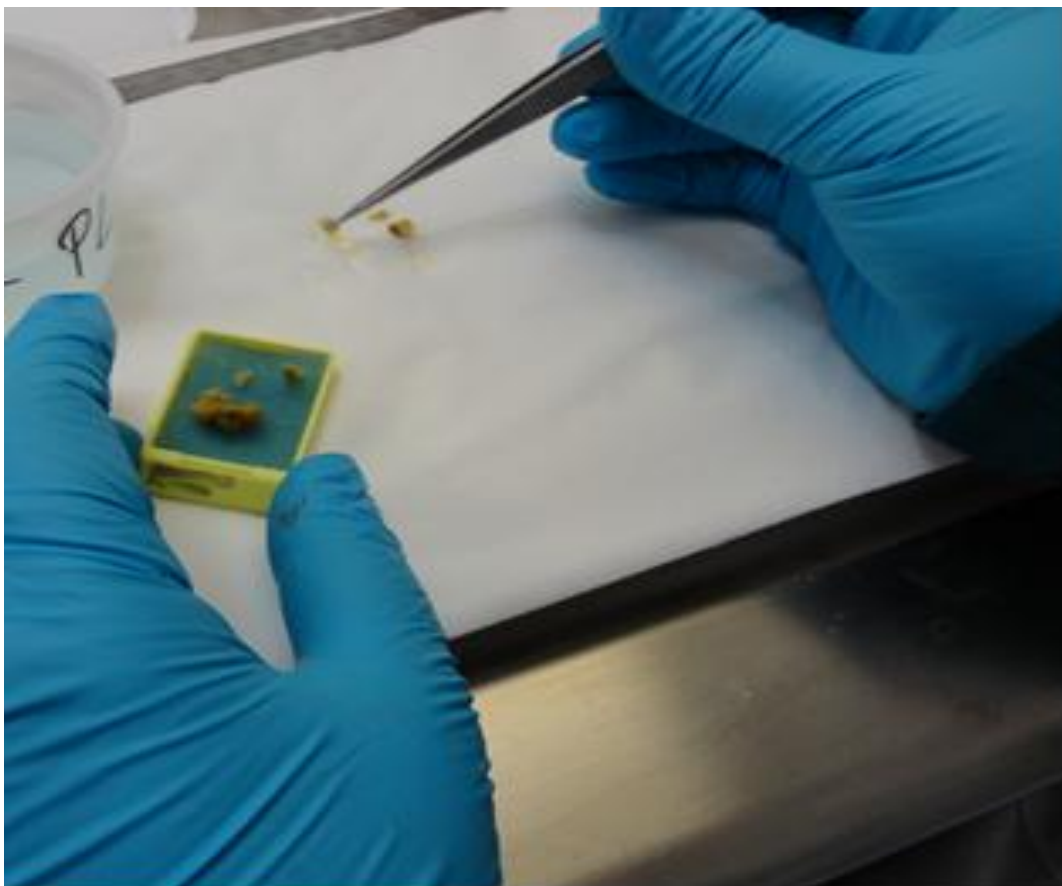
3.3 Näytteiden esikäsittely

Kiinnitetyt näytteet siirretään näytenpurkista näytekasetteihin vetokaapissa formaliniin haihtumisen takia (Aho 1999). Esimerkiksi pienet koepalat ja gynekologiset kaavintanäytteet voidaan laittaa sellaisenaan näytekasettiin tai ne suodattetaan tarvittaessa pieneen pussiin ja laitetaan kuduskuljetukseen (Mäkinen 2012). Kuduskuljetukseen menevien näytepalojen on oltava kooltaan niin pieniä, että ne mahtuvat reiälliseen näytekasettiin (Aho 1999). Näytteen paloittelua ja kasettiin siirtämistä on havainnollistettu kuvissa 1 ja 2.

Patologi tutkii makroskooppisesti isompia näytteitä, kuten poistettuja luomia ja niitä suurempia kirurgisia näytteitä, ja leikkaa tarvittavat näytteet kasetteihin. Näytteestä otetaan valokuvat tai siitä piirretään kuva ja kirjoitetaan havainnot ylös, jotta myöhemmässä näytteen käsittelyvaiheessa pystytään orientoitumaan näytteeseen vaivatta. (Mäkinen 2012.) Kuduskappale asetetaan kasettiin haluttu leikkauspintapuoli alaspäin ja haluttu leikkauspinta voidaan osoittaa esimerkiksi langalla (Aho 1999).



Kuva 1. Näytteen paloittelu.



Kuva 2. Kudospalojen siirtäminen kasettiin.

3.4 Dekalsifiointi

Dekalsifioinnin tarkoitus on pehmittää kovat kudokset, esimerkiksi luukudosnäytteet, poistamalla kalsiumin suolat. Ilman dekalsifointia parafiini ei tukisi riittävästi kovaa kudosta leikattaessa. Kalsiumsuolat saadaan poistettua nopeasti vahvalla hapolla, kuten 5 - 10 prosenttisella suola- tai typpihapolla. Pidemmät käsittelyajat turvottavat kudosta ja kudoksen värjäytyvyys saattaa muuttua. 5 - 10-prosenttinen muurahaishappo on hellempi, mutta käsittelyaika pitenee jopa pariin viikkoon. Luuta voidaan dekalsifioida ilman solurakenteen vaurioittamista kelatoivalla neutraalilla EDTA:lla eli etyleenidiamiinitetra-etikkahapolla 5 - 15-prosenttisena liuoksena. EDTA:ta käytetään esimerkiksi elektronimikroskooppinäytteiden käsittelyssä. Pehmeneminen kestää viikoista kuukausiin. (Aho 1999; Sterchi 2013.)

Dekalsifioinnin etenemistä voidaan seurata mekaanisilla, fysikaalisilla tai kemiallisilla testeillä. Neulalla voidaan tutkia pehmenemistä, jos pala on kooltaan tarpeeksi suuri, että se ei vauriodu helposti. Parempia tuloksia saadaan röntgenkuvaksella ja kemiallisella ammoniumoksalaaattitestillä. Käytettävän dekalsifointiaineen pitoisuudella ja käsittelylämpötilalla voidaan vaikuttaa, kuinka nopeasti dekalsifointi tapahtuu. Muita tapoja ovat sekoitus, ioninvaihtajien käyttäminen, elektrolyysi, ultraääni sekä mikroaallot. (Aho 1999; Sterchi 2013.)

Dekalsifointia ennen kudoksesta poistetaan ja fiksaatioliuos pestään vedellä pois, jotta estetään haitalliset kemialliset reaktiot fiksaatiin ja hapon välillä. Dekalsifointiainetta on oltava ainakin 20-kertainen määrä näytteen kokoon nähden. Käytettävää happoa vaihdetaan 24 - 48 tunnin välein ja EDTA:a 3 - 5 päivän välein. (Kiernan 1999.)

3.5 Kudoksen kuljetus eli kudosprosessointi

Näytteet pestään ennen kuljetusta, jotta fiksaatiivikiteitä ei jäisi näytteeseen (Aho 1999). Kuljetus muodostuu dehydraatiosta eli veden ja fiksaatiin poistamisesta näytteestä sekä kirkastuksesta, jossa poistetaan dehydraatiossa käytetyt aineet ja saadaan kudos vastaanottamaan infiltraatioaine. Infiltraatiossa eli imeytyksessä käytetään yleensä parafiinia. Kudoksien kuljettaminen voidaan tehdä automaattilla tai käsin. (Aho 1999; Spencer ym. 2013.)

Dehydrointi tehdään nousevalla alkolisarjalla. Sarja aloitetaan yleensä 50- tai 70-prosenttisella etanolilla ja liuoksen väkevyyttä nostetaan 5 - 20 prosenttiyksiköllä ja viimeisenä on absoluuttinen alkoholi. (Aho 1999; Spencer ym. 2013.) Liian tehokas dehydrointi kutistaa, kovettaa ja haurastuttaa kudosta. Puutteellisen dehydroinnin seurauksena puolestaan kudos on pehmeä ja infiltraatioaine ei imeydy kudokseen. (Spencer ym. 2013.) Etanolin huonona puolena on sen kalleus ja se myös kutistaa kudosta. Muita vähemmän käytettyjä dehydrointiaineita ovat esimerkiksi metanoli ja aseton. (Aho 1999; Spencer ym. 2013.)

Kirkastamisessa kudoksesta poistetaan alkoholi ja tavallisimmin siihen käytetään ksyleeniä. Parafiini ja etanoli eivät liukene toisiinsa, joten etanoli pitää pois-

taa näytteestä ennen infiltraatiota. (Aho 1999; Spencer ym. 2013.) Ksyleeni aiheuttaa kudoksen kutistumista, joten koneellisessa kuljetuksessa kudokset saavat olla ksyleenissä kaksi tuntia ja pienemmät palat käsin kuljetettaessa vain 10 - 15 minuuttia. Tolueneeni on toinen yleisesti käytetty kirkasteaine. (Aho 1999.) Kuvassa 3 on kuduskuljetusautomaatti.



Kuva 3. Kuduskuljetin.

3.6 Valaminen

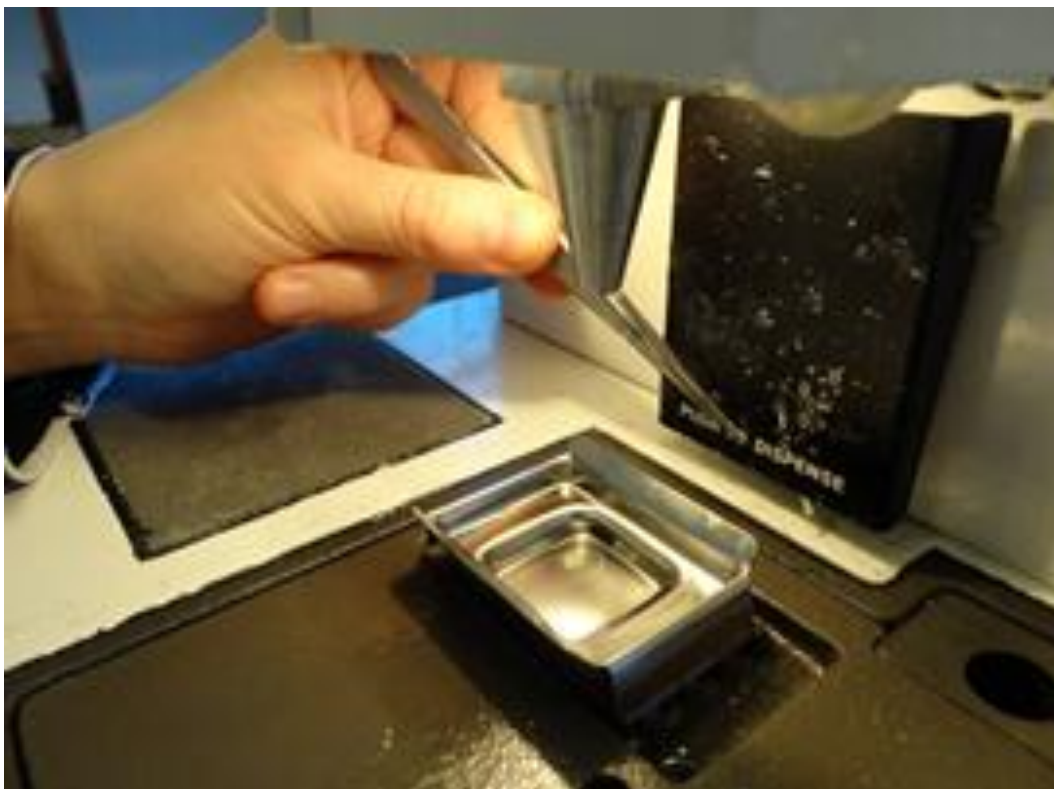
Valamisessa on tärkeää asetella kudos oikein valukasettiin, sillä väärän asettelun seurauksena leikatessa kudos voi vaurioitua tai haluttu kudiskohta ei leikkaannu leikkeeseen (Spencer ym. 2013). Valaminen suoritetaan valukoneen (kuva 4) lämpölevyllä, jolloin palaa pystytään myös asettelemaan valumuotissa haluttuun asentoon. Kudospala laitetaan kasetista valumuottiin niin että leikkauspinta tulee alaspäin. Kudoksen asettelun jälkeen kudusblokki laitetaan kovetumaan kylmälevylle. Lopuksi kudospalan identifioiva kasetti valetaan blokin kannaksi. (Aho 1999.)



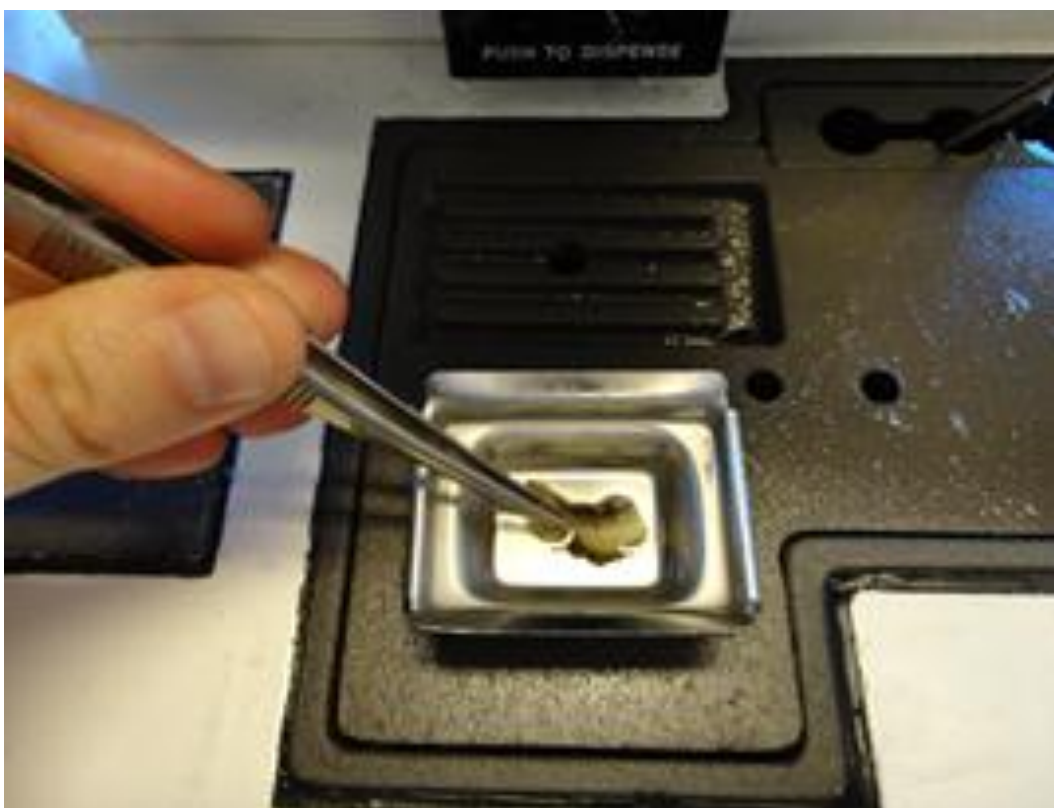
Kuva 4. Valukone

Valaminen käytännössä:

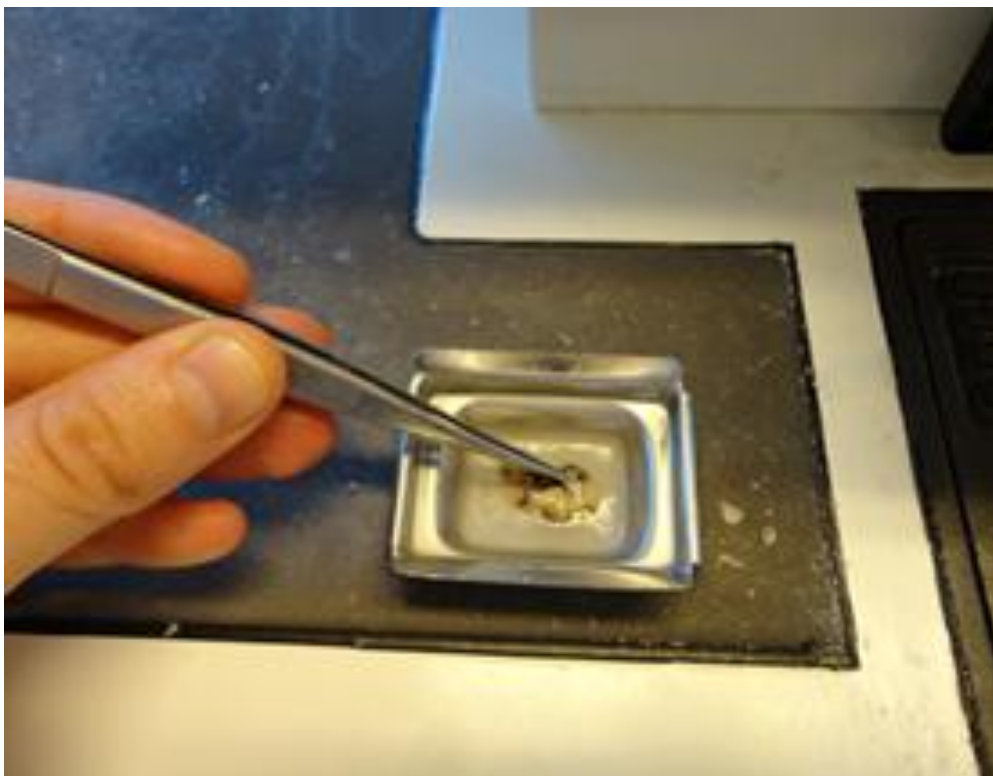
1. Valitse kudokselle sopivan kokoinen valumuotti ja valuta muotin pohjalle hieman sulaa parafiinia (kuva 5).
2. Asettele kudokse valumuottiin lämpölevyllä (kuva 6).
3. Paina kudokse valumuotin pohjaa vasten kylmälevyllä (kuva 7).
4. Aseta näytteen identifioiva kansi paikoilleen (kuva 8).
5. Valuta parafiinia näyteblokin päälle (kuva 9) ja siirrä sen jälkeen näyte kylmälevylle kovettumaan.



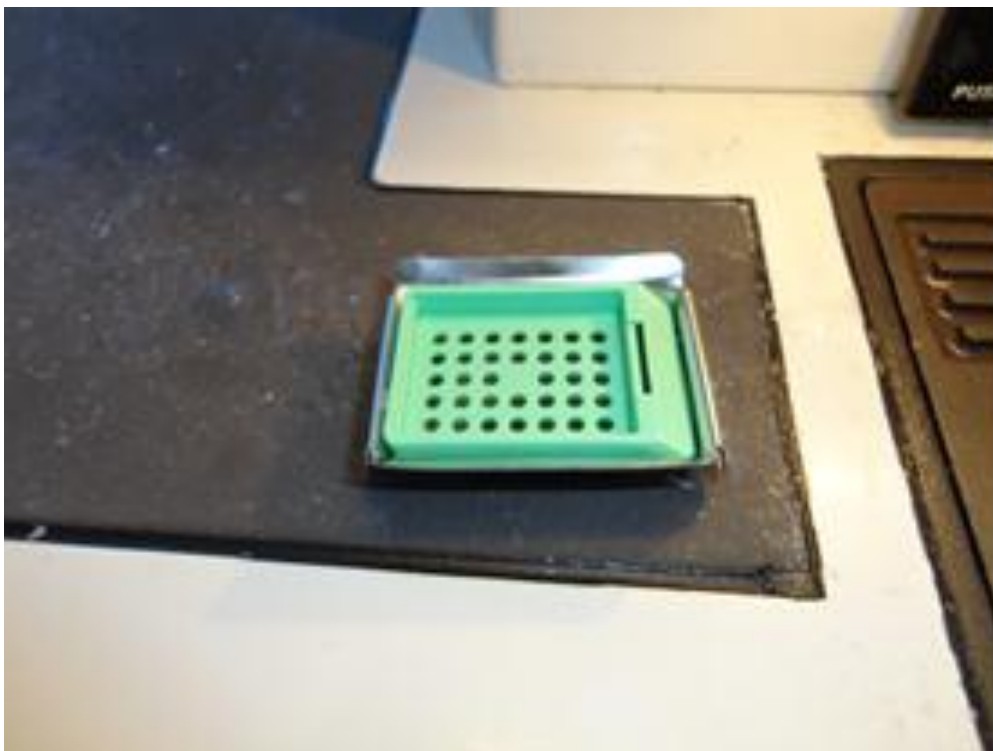
Kuva 5. Parafiinin valuttaminen muottiin.



Kuva 6. Kudospalan asettelu muottiin.



Kuva 7. Kudospalan kiinnittäminen parafiiniin.



Kuva 8. Näytteen päälle asetetaan yksilöivä kudoskopetti.



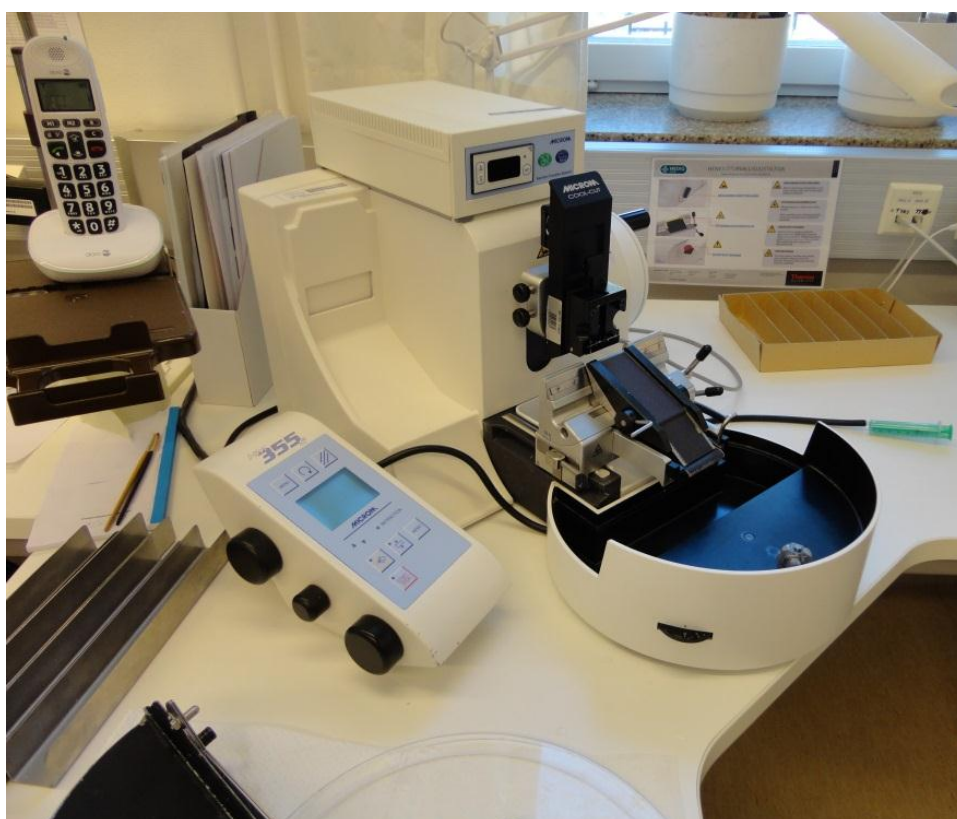
Kuva 9. Kasetin päälle valutetaan parafiinia.

3.7 Leikkaaminen

Leikkeet leikataan kovettuneista parafiiniblokeista mikrotomilla. Liukumikrotomi toimii siten, että blokki on paikallaan ja veitseeä liikutetaan (kuva 10). Kuvassa 11 on vesiliukumikrotomi. Rotaatiomikrotomissa blokki liikkuu ylös-alas-suunnassa ja veitsi on paikoillaan (kuva 12). (Aho 1999.)



Kuva 10. Liukumikrotomi.



Kuva 11. Vesiliukumikrotomi.



Kuva 12. Rotaatiomikrotomi.

Näytteestä leikattavien leikkeiden paksuus vaihtelee 2-10 μm :n välillä (Aho 1999; Spencer & Bancroft 2013). Onnistuneet leikkeet nostetaan mikrotomista siveltimiä apuna käyttäen kylmävesihauteeseen (+ 20 °C). Leikkeet laitetaan veteen mattapuoli eli blokin pinta ylöspäin. Leikkeet siirretään objektilasille järjestykseen ja seuraavaksi lasille asetellut leikkeet laitetaan vesihauteeseen (+ 45 °C). Kudoksen ympärillä oleva parafiini pehmentyy ja leikkeitä voidaan vielä oikoa. Leikkeet poimitaan lasille ja lasit laitetaan lämpökaappiin (+ 60 °C), jossa leikkeet tarttuvat lasille. (Aho 1999.)

Näytteen leikkaaminen käytännössä:

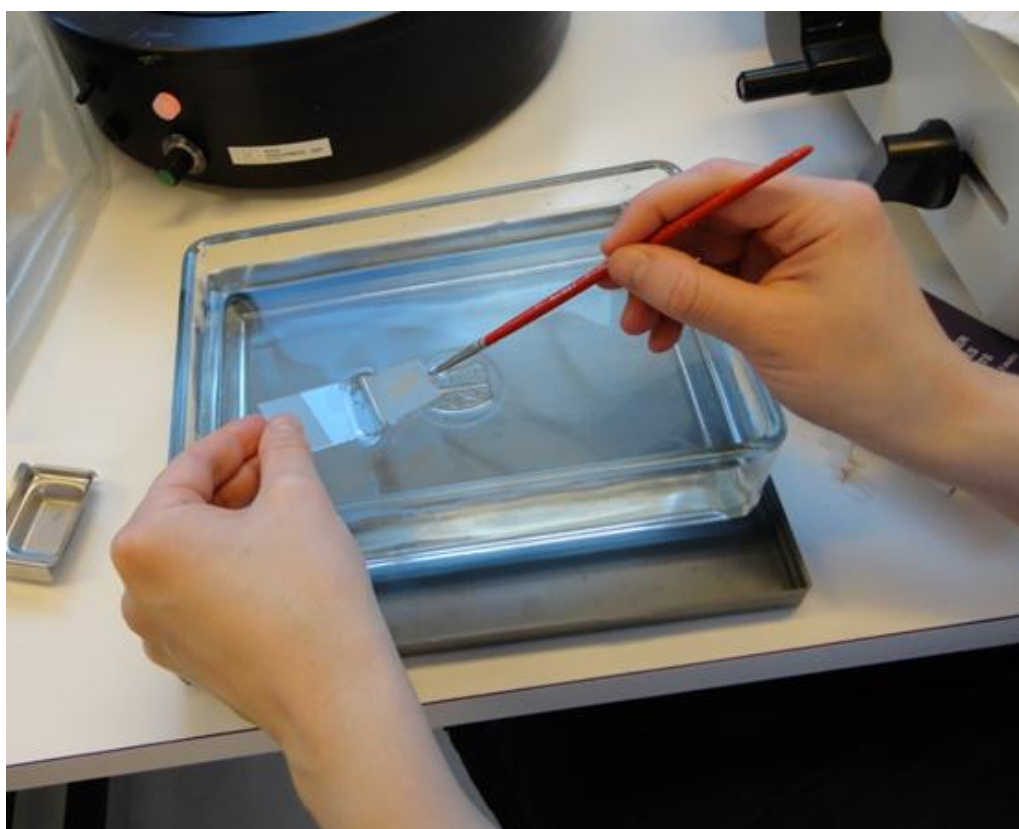
1. Leikkaa koko kudoksen esille, voit käyttää silloin esimerkiksi 10 μm :n leikepaksuutta. Leikkaa sitten halutulla paksuudella näyteleikkeitä, esimerkiksi 2 μm :n paksuisina. Kuvassa 13 leikataan näyteblokkia.
2. Siirrä leikkeet pensselien avulla kylmävesialtaaseen leikkeen kiiltävä puoli veden pintaa vasten. Voit suoristaa pensselien avulla leikettä. Siirrä leikkeet objektilasille. Kuvissa 14 - 16 esitetään näyteleikkeen käsittely kylmävesialtaassa.
3. Seuraavaksi siirrä näyteleikkeet lämpöhauteeseen (kuvat 17 ja 18), jossa näytteet suoristuvat lisää. Poimi leikkeet objektilasille oikeaan järjestykseen.
4. Siirrä objektilasi lämpökaappiin (kuva 19), jossa näyteleikkeet kiinnittyvät lasille.



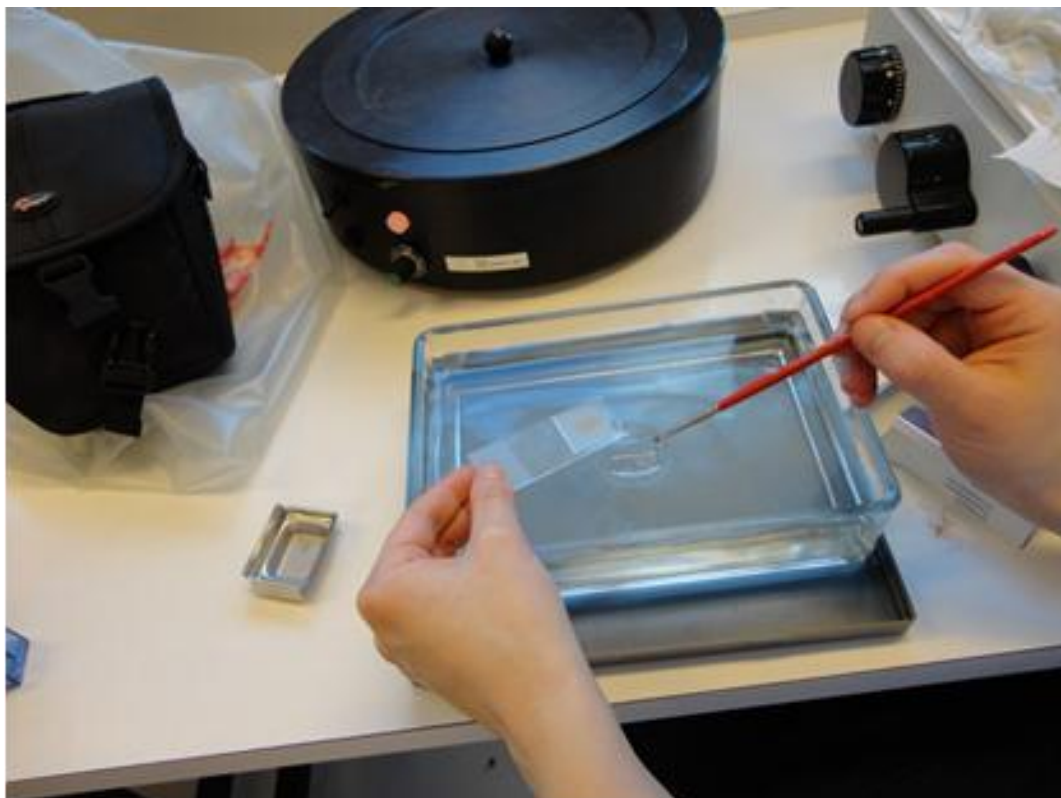
Kuva 13. Näyteblokin leikkaaminen



Kuva 14. Näyteleike kylmävesiastiassa.



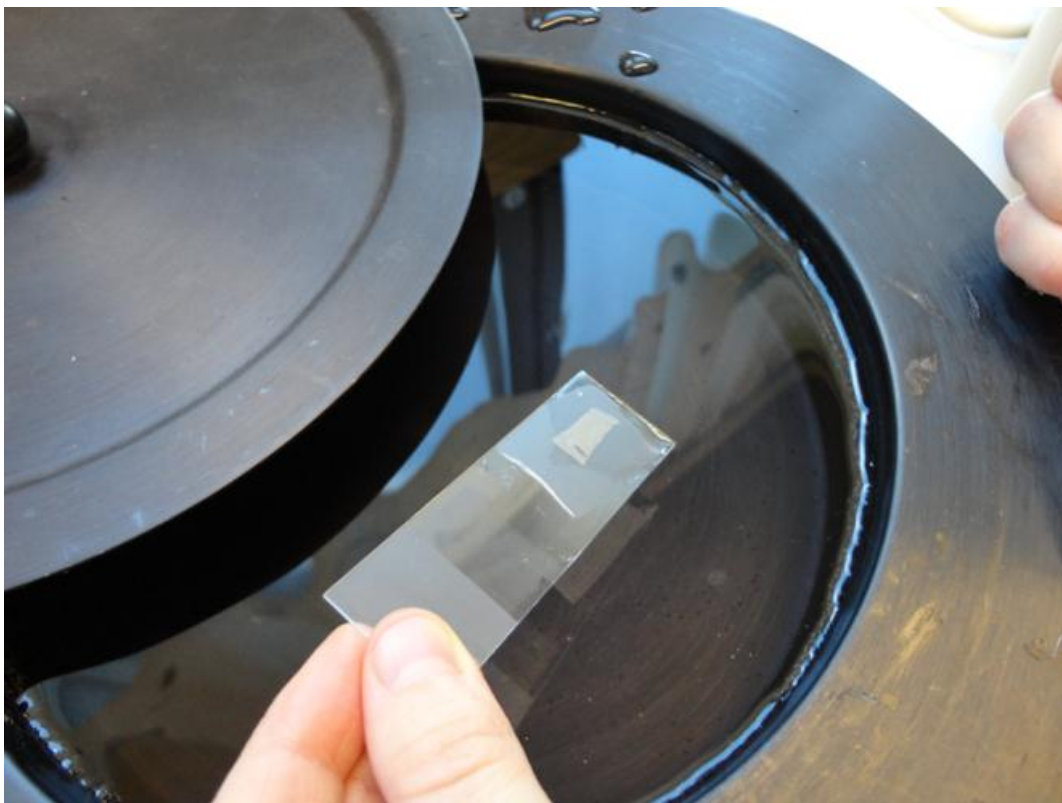
Kuva 15. Näyteleikkeen suoristaminen kylmävesiastiassa.



Kuva 16. Näyteleike lasilla.



Kuva 17. Näyte suoristuu lämpöhauteessa.



Kuva 18. Näyte poimittuna takaisin lasille.



Kuva 19. Objektilasi lämpökaapissa kuivumassa.

3.8 Jääleikkeet

Jääleikkeitä valmistetaan erikoistapauksissa, jos esimerkiksi kudskomponentit tuhoutuisivat helposti fiksaatiossa tai parafiiniin valamisen aikana tai näytteen tutkimustulos halutaan nopeasti, esimerkiksi kirurgisen toimenpiteen aikana. Jääleikkeet mahdollistavat esimerkiksi immunohistokemian ja immunofluorenssin käytön jatkomenetelminä. Jääleikkeitä leikataan tavallisesti kryostaatilla eli rotaatiomikrotomilla (kuva 20), joka on sijoitettu pakastimeen. (Aho 1999; Spencer & Bancroft 2013.)

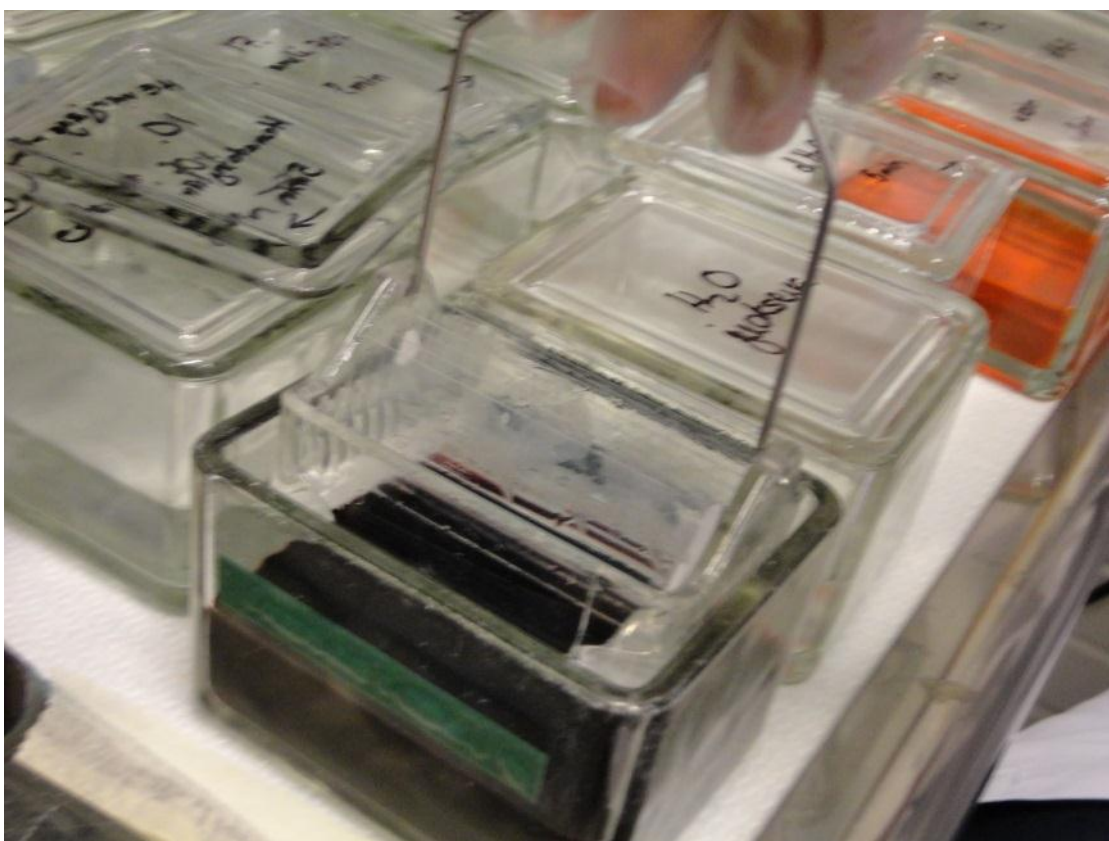


Kuva 20. Jääleikemikrotomi eli kryostaatti.

3.9 Värjäys ja päällystäminen

Kudokset ovat itsessään värittömiä ja ilman värjäystä kudusrakenteet eivät näkyisi mikroskoopissa (Stevens & Lowe 2005), joten väriaineella tai reagenssilla voidaan tuoda esille halutut kudskomponentit (Horobin 2013). Ennen värjäämistä leikkeistä poistetaan parafiini ksyleenillä ja laskevalla alkoholisarjalla näytteet rehydroidaan eli leikkeisiin tuodaan vesi. Värjäämisen jälkeen leikkeistä

poistetaan vesi dehydraatiolla eli nousevalla alkoholisarjalla. Lopuksi etanoli poistetaan ksyleenilla. Viimeiseksi leikkeiden päälle pipetoidaan päällystysainetta, jolla peitinlasi voidaan kiinnittää näytteen päälle. Päällystysaineita on olemassa vesi- ja ei-vesiliukoisia. Leikkeeseen kiinnittynyt väri ei saa liueta päällystysaineeseen, joten värjäysohjeissa on yleensä ilmoitettu väriin soveltuva päällystysaine. (Aho 1999.) Kuvassa 21 on esitetty käsin värjäyksessä värjäyskelkan siirtäminen ja kuvassa 22 on värjäyskone.



Kuva 21. Käsin värjäys

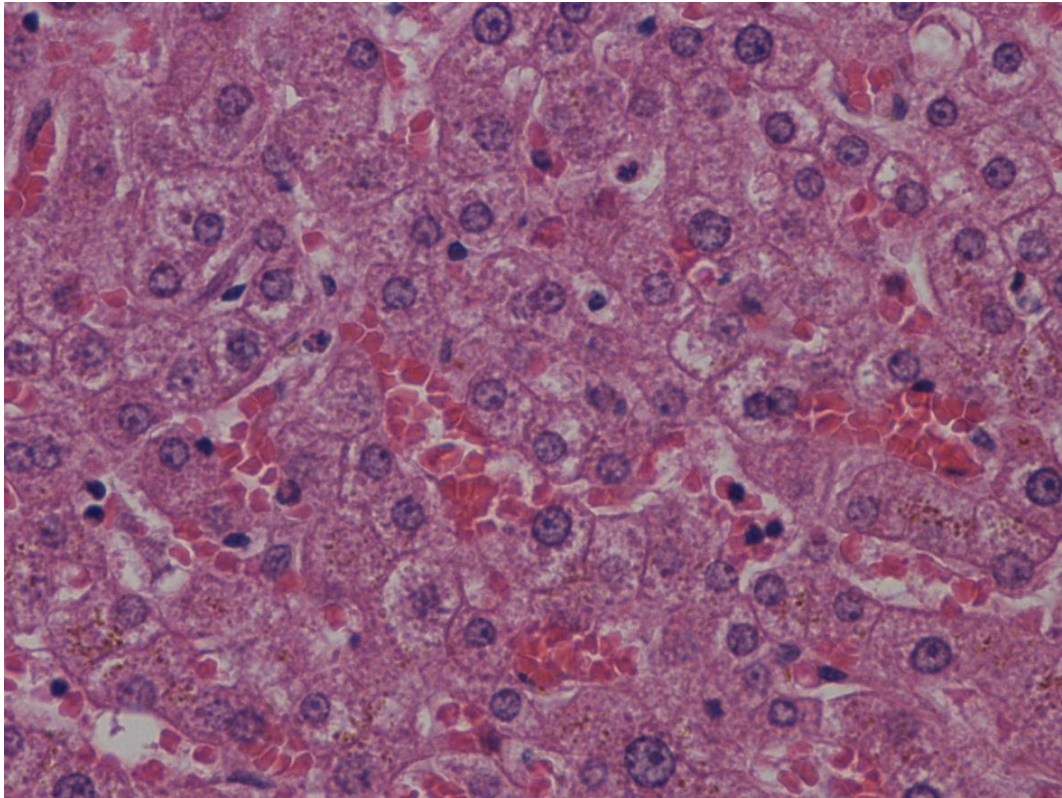


Kuva 22. Värjäyskone.

3.10 Yleisimmät histologiset värit

3.10.1 Hematoksyliini-eosiini (H&E)

Hematoksyliini-eosiini on histologiassa yleisesti käytetty värjäys, jossa käytetään kahta väriä (Mäkinen 2012). Eosiini on hapan väri, joka värjää kudoksen emäksiset osat, esimerkiksi soluliman. Hematoksyliini on emäksinen väri, joka värjää kudoksen happamat osat, esimerkiksi tuman nukleiinihapot. (Aho 1999.) Tuman kromatiini värjäytyy sini-mustaksi hematoksyliinillä sekä sytoplasma ja sidekudoksen säikeet vaaleanpunaisiksi, oransseiksi tai punaisiksi eosiinilla (Gamble 2008). Kuvassa 23 on esimerkki värjäyksestä.

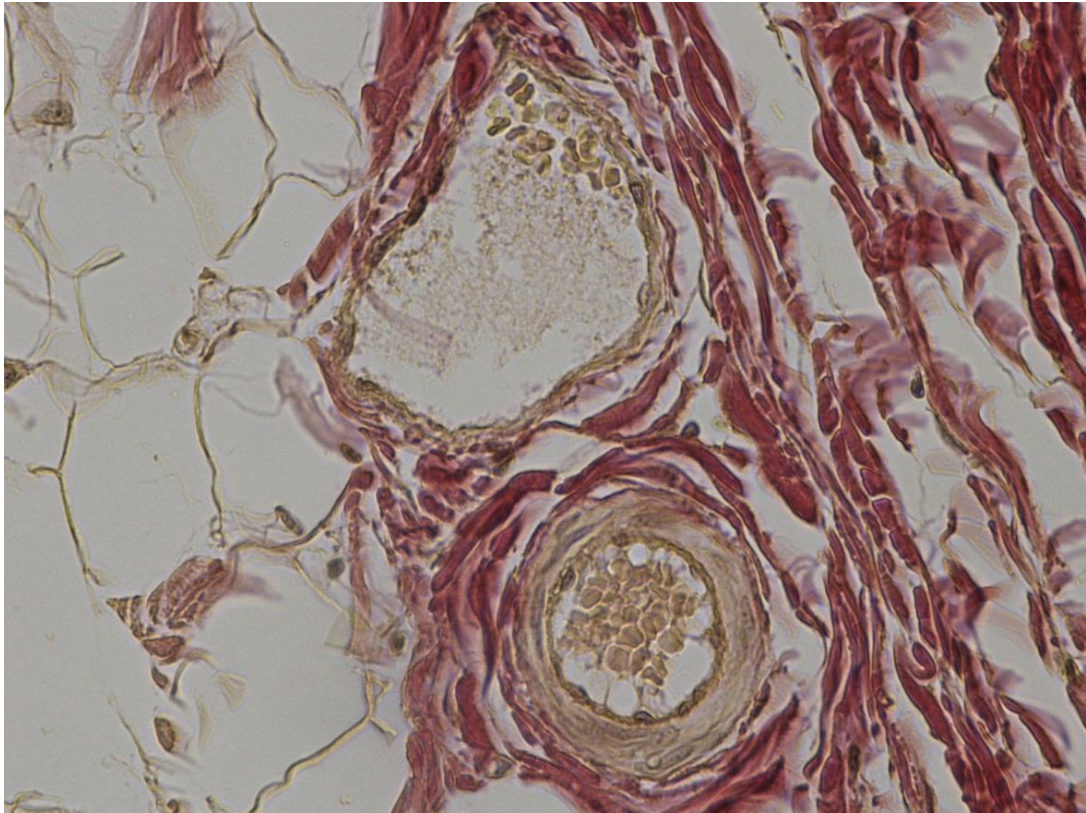


Kuva 23. H&E-värjäys maksakudoksesta 40x.

3.10.2 Weigert-van Gieson (VG)

Weigert-van Gieson on toinen perusvärjäys (Mäkinen 2012). Sidekudosvärit tuovat esiin erityisesti kollageenin, mutta ne myös värjäävät esimerkiksi lihassolujen sytoplasman. Sidekudos muodostuu soluista sekä soluväliaineesta. Soluväliaine sisältää säikeisiä proteiineja, enimmäkseen kollageenia ja lima-aineita. Kollageenia ovat sidekuduskollageenit (tyypit I ja III), rusto (tyyppi II) ja tyvikalvo (tyyppi IV). Soluväliaine eli matriksi on kalkkiutuneen luun perusainesta ja se on pääosin tyypin I kollageenia. Elastisia säikeitä on esimerkiksi valtimoiden seinämässä sekä ihossa. (Aho 1999.)

Kollageenisäikeeseen imeytyy happamat värit happamasta liuoksesta. van Giesonin liuoksen väriaineina käytetään hapanta fuksiinia ja pikriinihappoa sekä tumat värjätään Weigertin rautahematoksyliinilla. Lihas, solulima, punasolut ja fibriini värjäntyvät kellertäviksi pikriinihapon vaikutuksesta ja sidekudoksen kollageeni värjäytyy punaiseksi fuksiinilla. (Aho 1999.) Kuvassa 24 on esimerkki värjäyksestä.



Kuva 24. vG-värjäys pienestä valtimosta ja laskimosta 40x (keskikalvon sileäli-hassolut värjäytyneet keltaiseksi).

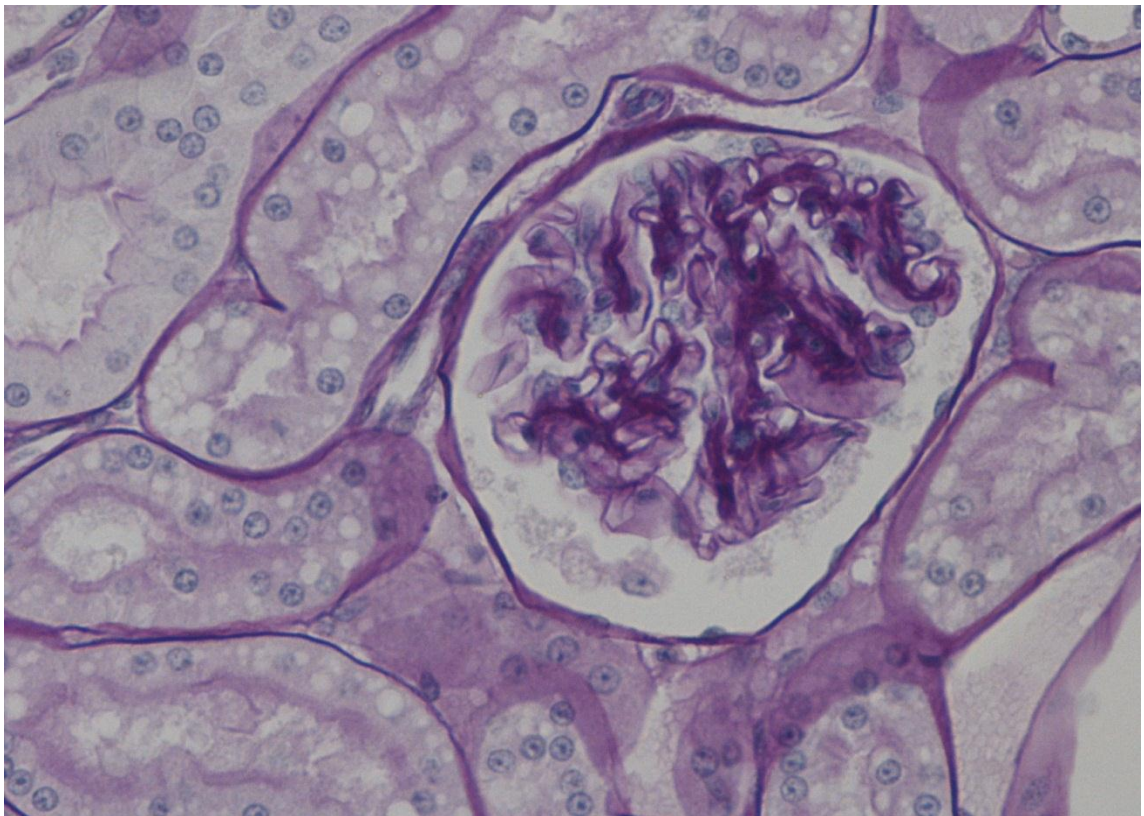
3.10.3 Periodic acid Schiff (PAS)

PAS-värjäys (kuva 25) on tavallisesti käytössä oleva hiilihydraattiväri (Mäkinen 2012), joka värjää glykokeenin ja limat. Epiteelien alla oleva tyvikalvo, maksakudos, sydän- ja luurankoliassolut, karvatupen epiteeli, kohdun rungon limakalvon epiteeli ja emättimen levyepiteeli sisältävät paljon glykokeenia. Lisäksi tietyt kasvainsolut ja harvinaisten kertymäsairauksien (glykogenoosit) yhteydessä kudokset sisältävät glykokeenia. Limaa on solun sisällä ja soluväliaineen osina. Neutraalia limaa on esimerkiksi pohjukaissuolessa Brunnerin rauhasissa ja mahan limakalvossa sekä suoliston ja hengitysteiden epiteelien pikarisoluissa. Jos karsinoomasoluissa on limaa, kyseessä on rauhasperäinen kasvain eli adenokarsinoma. (Aho 1999.)

Glykokeenit ja limat osoitetaan PAS-reaktiolla, jossa ylijodihapolla hapetetaan hiili-hiili-sidos ja saadaan näin muodostumaan dialdehydeja. Punainen reaktiotuote syntyy, kun Schiffin reagenssin emäksinen fuksiini, natriummetabisuliitti

ja suolahappo reagoivat aldehydien kanssa. Värjäyksessä saadaan värjätymään suurin osa limoista, erityisesti neutraalit limat. Värjäytymättä kuitenkin jäävät jotkut happamat limat sekä hyaluronihappo. PAS-värjäyksellä saadaan erottumaan myös tyvikalvot. (Aho 1999.)

Kun leike esikäsitellään amylaasilla, saadaan siitä poistettua glykogeeni ja siten eroteltua lima ja glykogeeni. Amylaasiaineena voidaan käyttää sylkeä tai diastaasia, joka on peräisin maltaasta. (Aho 1999.)



Kuva 25. PAS-värjäys munuaiskudoksesta 40x, kuvassa värjättyneenä voimakkaammin tubulustiehyiden ja hiussuonikeräsen tyvikalvot.

4 PERUSKUDOKSET

Epiteeli-, lihas-, tuki- ja hermokudos ovat kudoksien pääluokat. Kudokset muodostuvat soluista sekä solujen tuottamasta soluväliaineesta. (Niensted & Kallio 2005.) Lisäksi veri sekä imuneste voidaan ajatella omaksi ryhmäkseen ja niiden ero muihin kudoksiin on liukoinen soluväliaine (Niensted ym. 2009).

4.1 Epiteelit

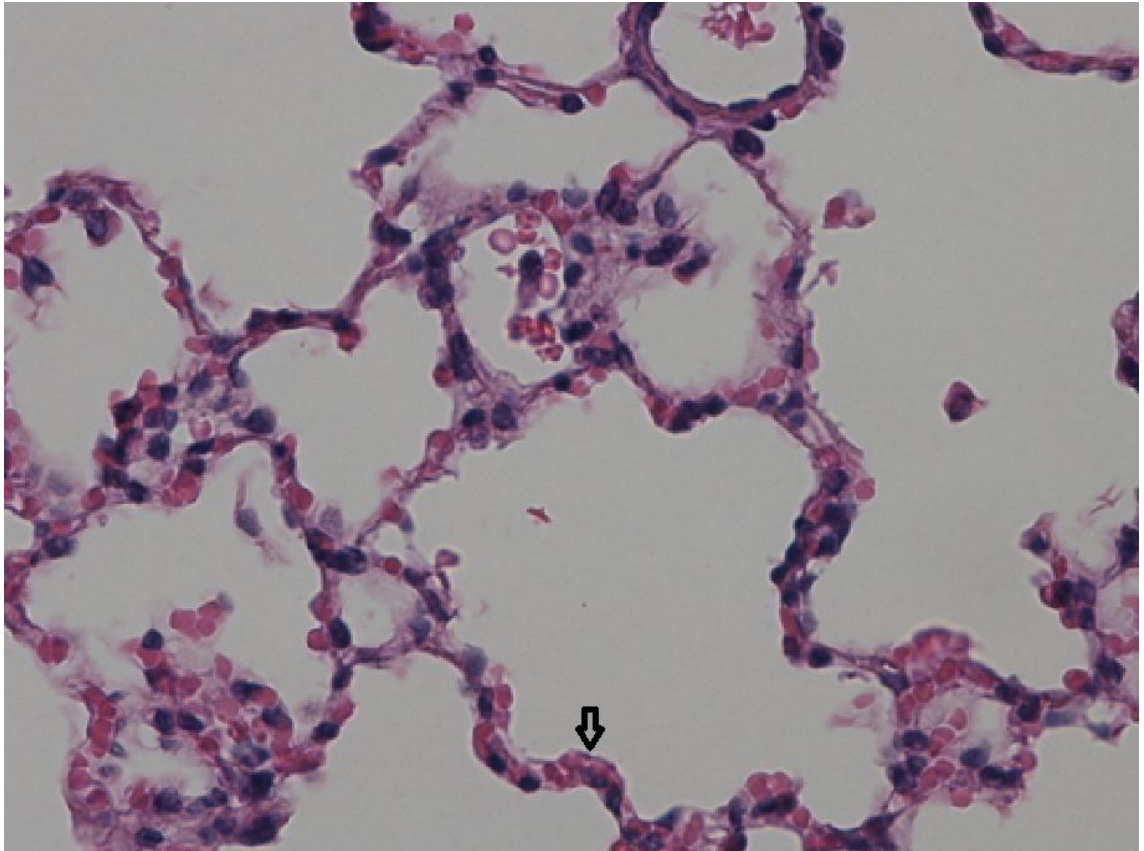
Epiteelikudosta löytyy kaikilta elimistömme tiehyiden ja putkirakenteiden pinnalta, ihosta sekä limakalvoilta. Epiteelikudokset ovat verisuonettomia, niissä on vain vähän soluväliainetta ja paljon soluja. Epiteelin jaottelu voidaan tehdä solun muodon ja solukerrosten lukumäärän perusteella. Tyvikalvo eli tyvilevy sijaitsee epiteelisolukon alapuolella ja sen tarkoitus on kiinnittää epiteelisolukko alapuoliseen kudokseen. (Niensted ym. 2009; Vierimaa & Laurila 2011.)

4.1.1 Yksikerroksiset epiteelit

Nimensä mukaisesti yksikerroksisessa epiteelissä on vain yksi kerros soluja ja se näyttää litistyneeltä tai pylväsmäiseltä (Young ym. 2008). Yksikerroksisen epiteelisolukon läpi kulkeutuu muun muassa molekyylejä ja hengityskaasut (Niensted ym. 2009) eikä se juuri kestä mekaanista kulutusta. Tyypit ovat levy-, kuutio- ja lieriöepiteeli sekä valekerrostunut epiteeli. (Young ym. 2008.)

a) Yksikerroksinen levyepiteeli

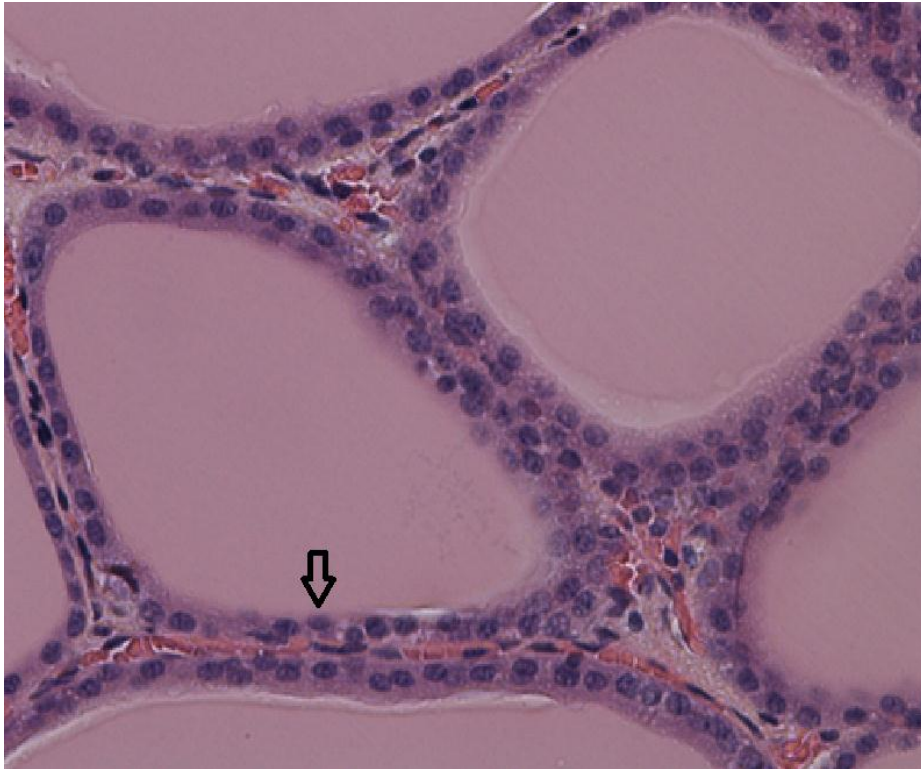
Muun muassa keuhkorakkuloiden sekä verisuonten seinämän sisäpinnalla on yksikerroksista levyepiteeliä (kuva 26) ja sen läpi kulkeutuvat melko nopeasti pienimolekyyliset aineet, kuten kaasut ja ravintoaineet (Niensted ym. 2009). Solut näyttävät litistyneiltä ja ne ovat epäsäännöllisen muotoisia (Young ym. 2008).



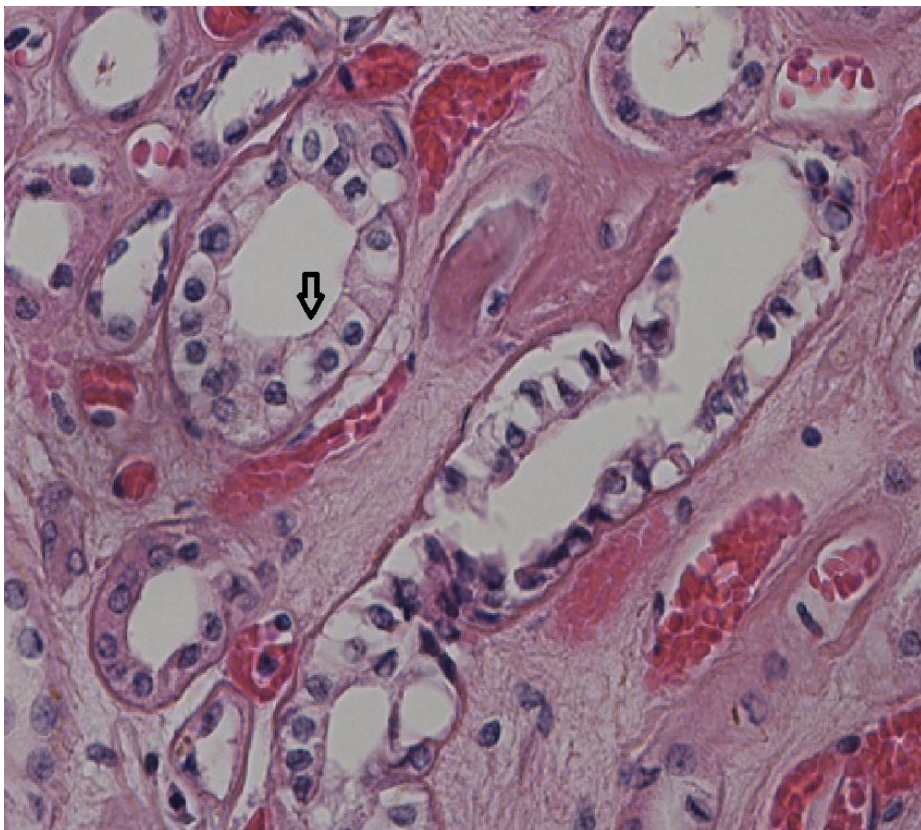
Kuva 26. Yksikerroksinen levyepiteeli alveolin seinämässä 40x (H&E).

b) Kuutioepiteeli

Kuutioepiteeli (kuvat 27 ja 28) on välimuoto levy- ja lieriöepiteelistä. Solut näyttävät neliömäisiltä, mutta pinnalta katsoen ne näyttävät monikulmaisilta. Tuman muoto on tavallisesti pyöreä ja se sijaitsee keskellä solua. (Young ym. 2008.) Esimerkiksi pienten eritystoiminnallisten rauhasputkien seinämää ja munuaistubulusten sisäpintaa verhoaa yhdenkertainen kuutioepiteeli (Young ym. 2008; Niensted ym. 2009).



Kuva 27. Kuutioepiteeliä, kilpirauhanen 40x (H&E).

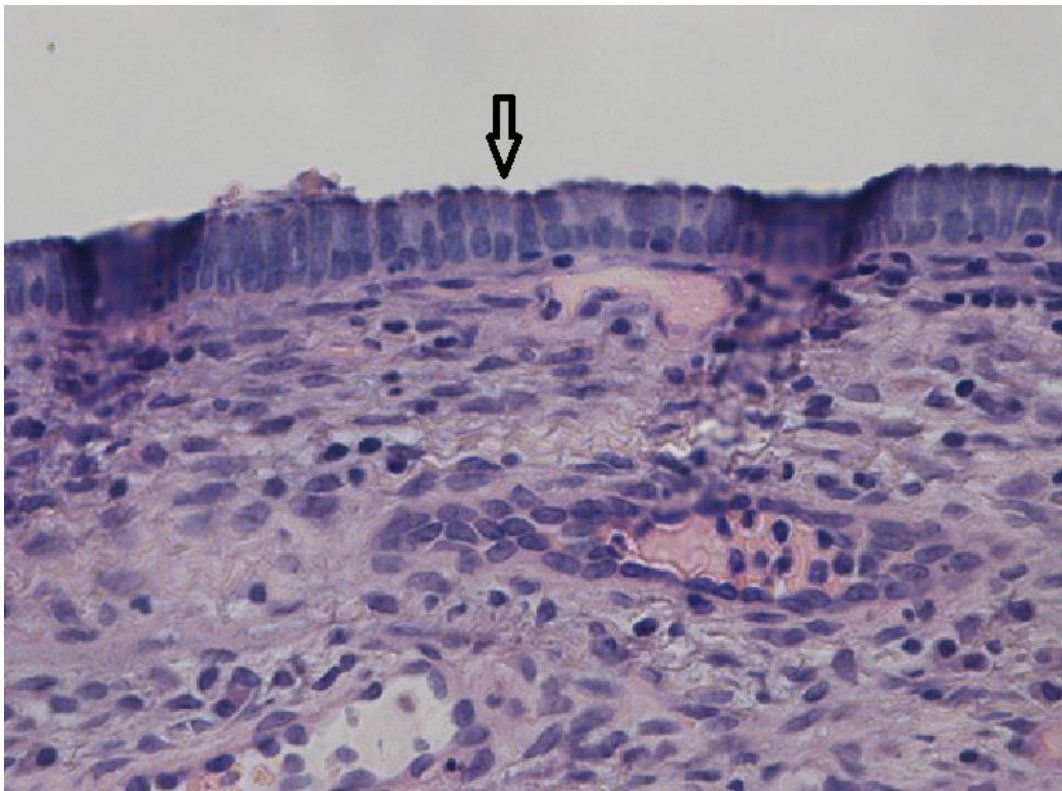


Kuva 28. Kuutioepiteeliä, munuaistubulukset 40x (H&E).

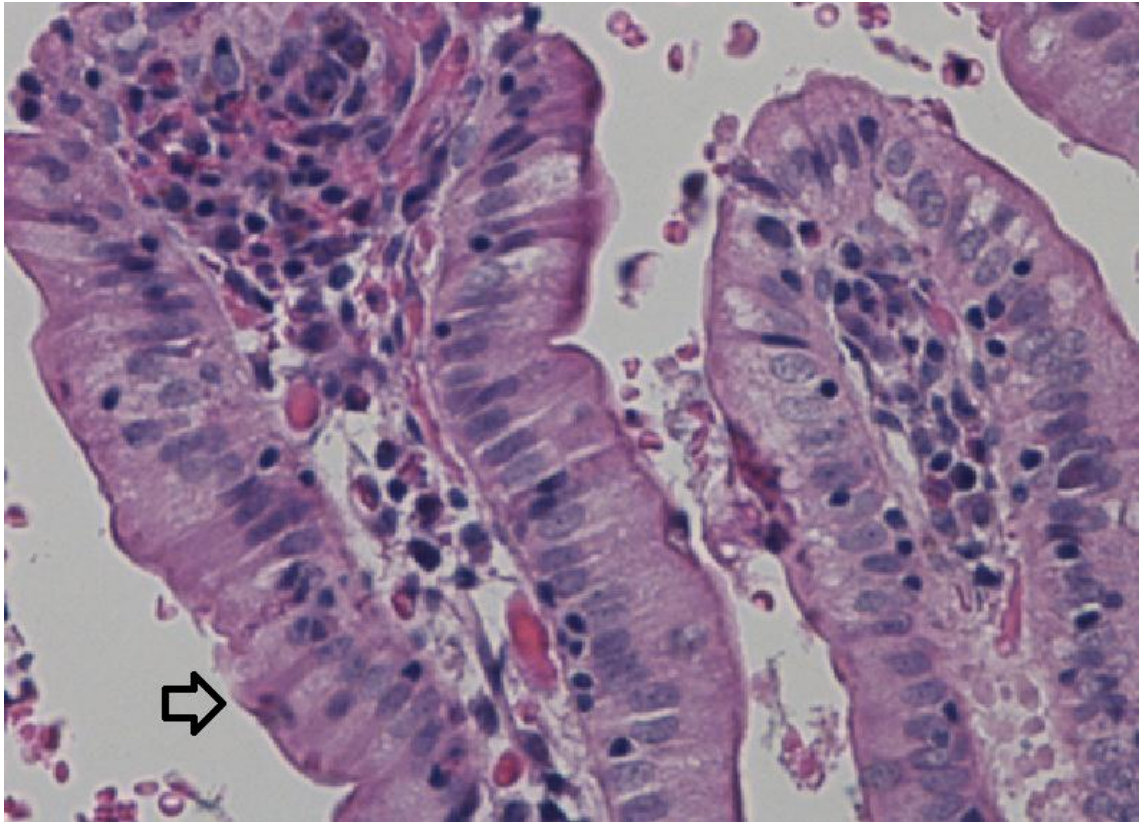
c) Lieriöepiteeli

Lieriöepiteelissä (kuva 29) solut ovat kuutioepiteeliä pidempiä, pylväsmäisiä ja solujen pituus vaihtelee toiminnan mukaan. Tuma sijaitsee alhaalla basaalisesti eli tyvessä, keskellä tai joskus sytoplasman kärjessä eli apikaalisesti. (Young ym. 2008.) Kohdunkaulakanavassa ja esimerkiksi ruoansulatuskanavan seinä-mässä ruokatorven alaosaan lähtien on yhdenkertaista lieriöepiteeliä. Aineet siirtyvät lieriösolujen läpi joiltain kohdin melko nopeasti, tavallisesti hitaammin ja enemmän valikoituvasti kuin levyepiteelissä. (Niensted ym. 2009.)

Joillakin lieriöepiteelisolussa on apikaalipinnallaan värekarvoja eli mikrovilluksia (kuva 30). Tällaista lieriöepiteelityyppiä on esimerkiksi naisten munanjohtimissa. (Young ym. 2008.)



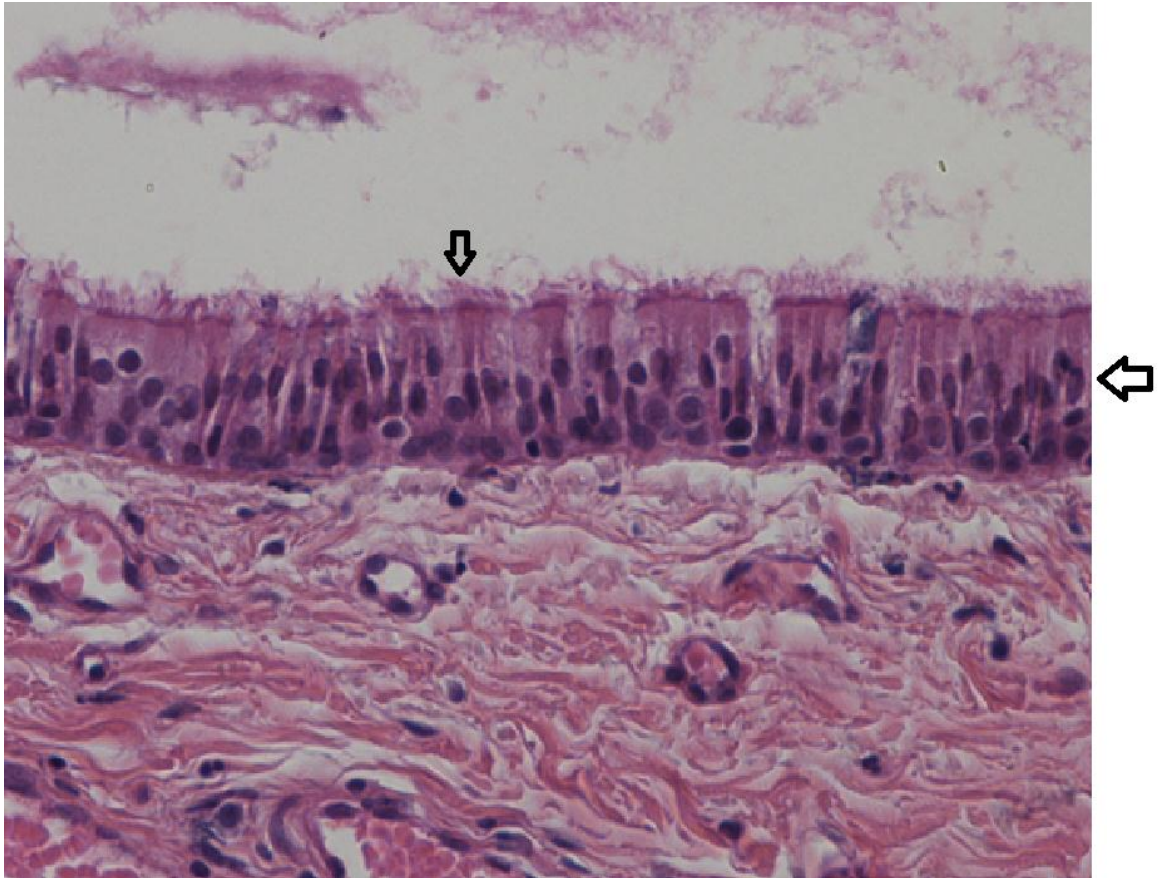
Kuva 29. Kohdunkaulakanavan eli cervixin lieriöepiteeliä 40x (H&E).



Kuva 30. Värekarvallinen lieriöepiteeli ohutsuolen nukkalisäkkeiden päällä 40x (H&E).

d) Valekerrostunut värekarvallinen epiteeli

Yhdenkertaisen lieriöepiteelin rakenne laskostuneessa muodossaan vaikuttaa kerrostuneelta, mutta solut ovat yhdessä kerroksessa ja kiinnittyvät tyvikalvoon (Niensted ym. 2009). Hengitysteissä on valekerrostunutta epiteeliä (Niensted ym. 2009) ja epiteelisolujen pinnalla on mikrovilluksia eli värekarvoja (kuva 31) (Young ym. 2008).



Kuva 31. Valekerrostunut värekarvallinen epiteeli hengityselimistä 40x (H&E).

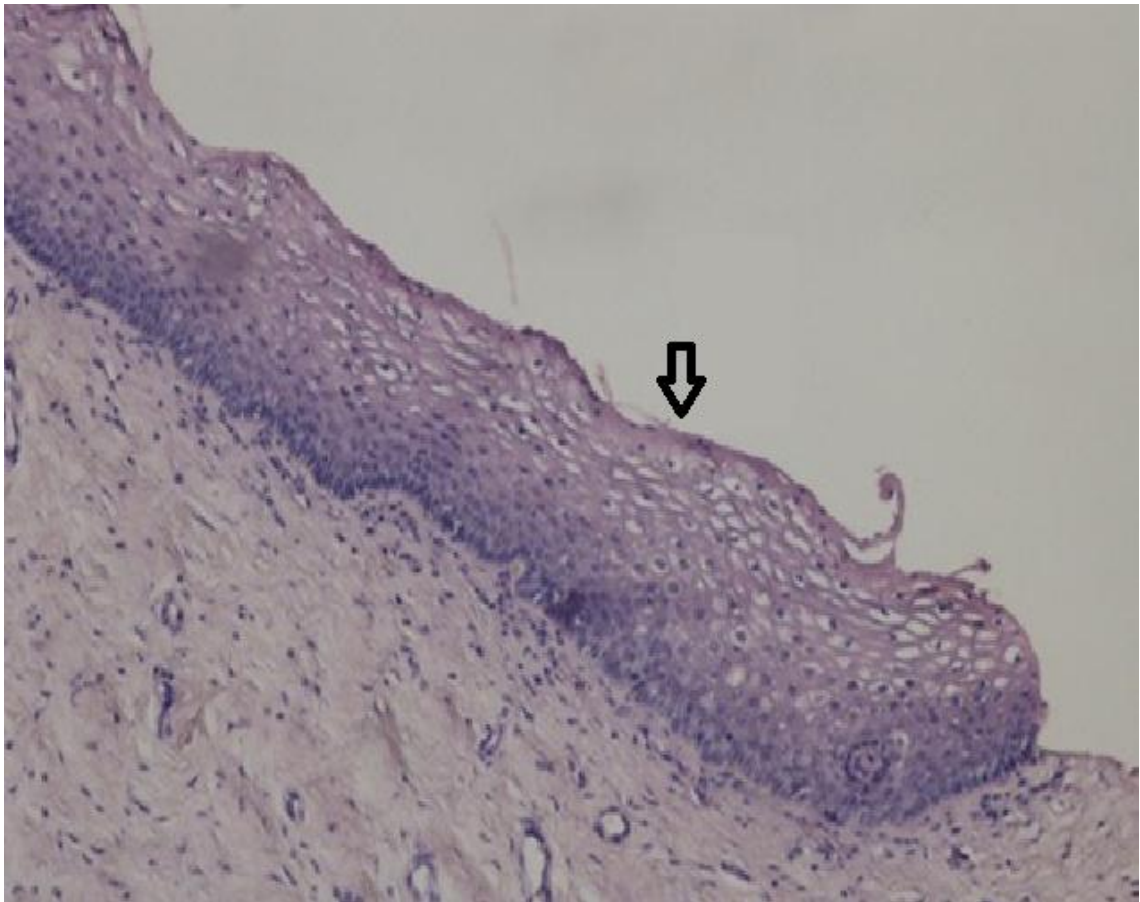
4.1.2 Kerrostuneet epiteelit

Kerrostuneet epiteelit jaotellaan levy-, kuutio- ja lieriöepiteeleihin (Niensted ym. 2009) ja niissä on tavallisesti kaksi tai useampi kerros soluja päällekkäin. Luokittelu perustuu epiteelin uloimpaan solukerrokseen, sillä alempien solukerrosten solut näyttävät tavallisesti kuutiomaisilta. (Young ym. 2008.) Kerrostuneet epiteelit kestävät kulutusta ja niitä on esimerkiksi iholla, äänihuulissa, suuontelossa, sukupuolielimistössä sekä ruoansulatuskanavan alku- ja loppuosassa (Niensted ym. 2009).

a) Kerrostunut levyepiteeli

Kerrostuneen levyepiteelin (kuva 32) pinta koostuu levymäisistä soluista ja alempien kerrosten solut ovat kuutiomaisia. Kerrostunutta levyepiteeliä on esi-

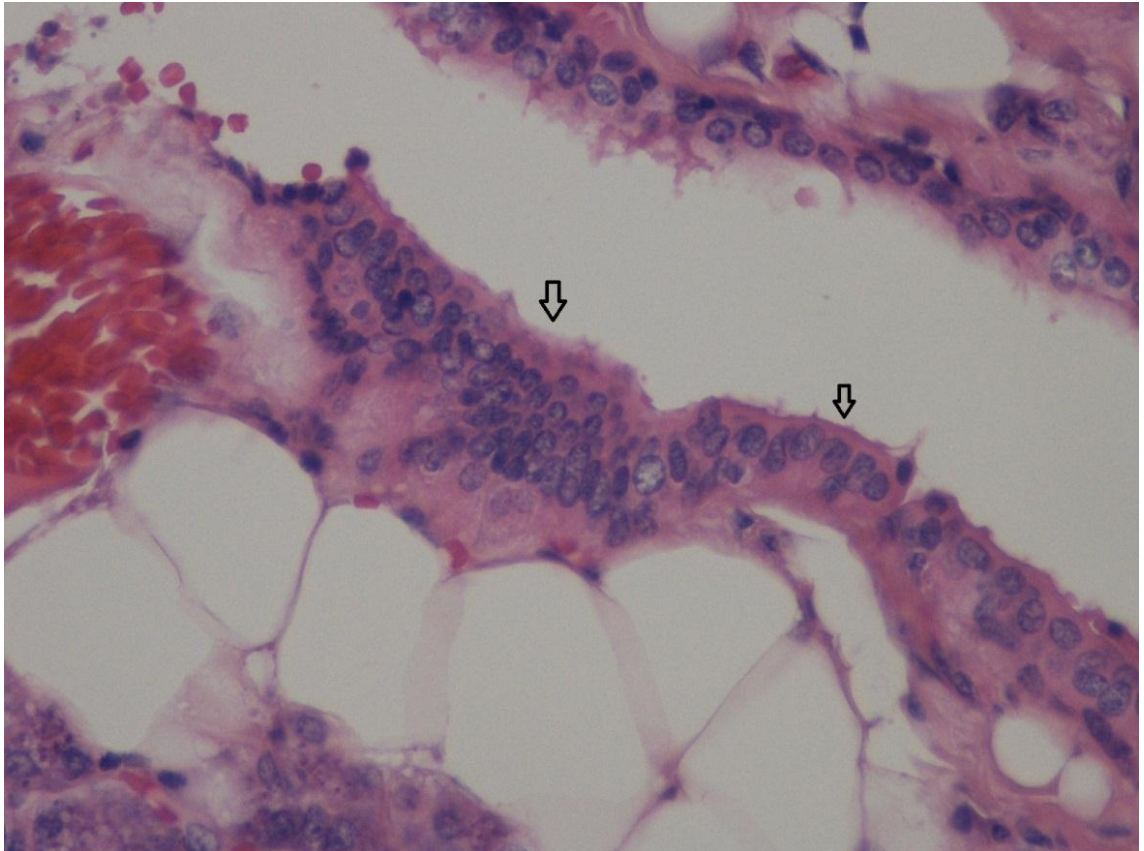
merkiksi vaginassa, suuontelossa ja peräaukon alueella, jossa epiteelin täytyy kestää mekaanista kulutusta. (Young ym. 2008.)



Kuva 32. Kerrostunutta levyepiteeliä vaginasta 10x (H&E).

b) Kerrostunut kuutioepiteeli

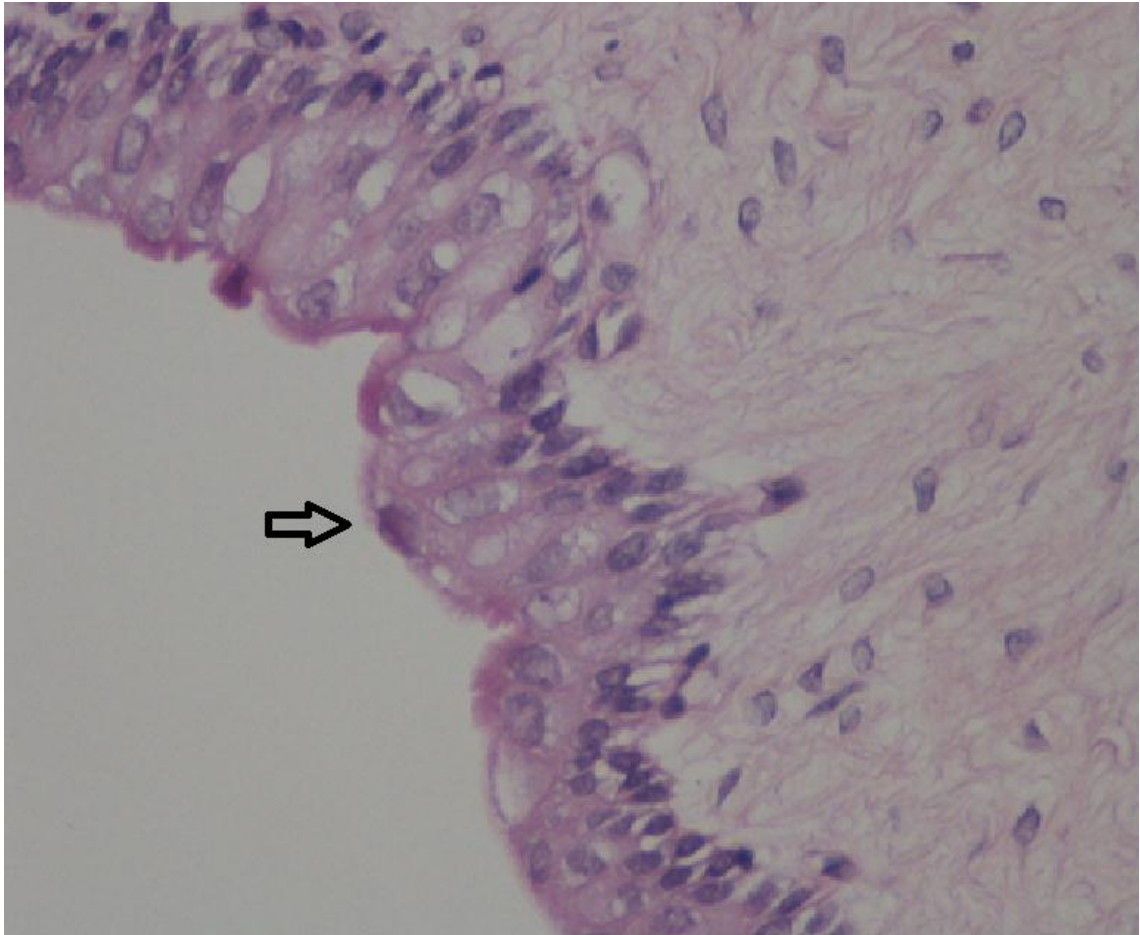
Kerrostuneessa kuutioepiteelissä (kuva 33) on kaksi tai kolme kuutiomaista solukerrosta. Kerrostunutta kuutioepiteeliä on esimerkiksi suuremmissa erittävisissä rauhasissa. (Young ym. 2008.)



Kuva 33. Kerrostunutta kuutioepiteeliä sylkirauhasesta 40x (H&E).

c) Uroteeli eli välimuotoinen epiteeli

Uroteeli (kuva 34) on kerrostunutta epiteeliä, jota esiintyy ainoastaan virtsateisissä. Sen pitää kestää venytystä ja sillä on kerrostuneen kuutioepiteelin ja kerrostuneen levyepiteelin ominaisuuksia. Laskostuneena se on neljän tai viiden solukerroksen paksuinen, basaalisolut on kuutiomaisia, keskikerroksen solut ovat monikulmaisia ja pintasolut ovat suuria ja pyöreitä ja niissä voi olla kaksi tumaa. Venyneenä uroteeli näyttää kaksi- tai kolmekerroksiselta ja keski- ja pintakerrokset näyttävät tasaiselta. (Young ym. 2008.)

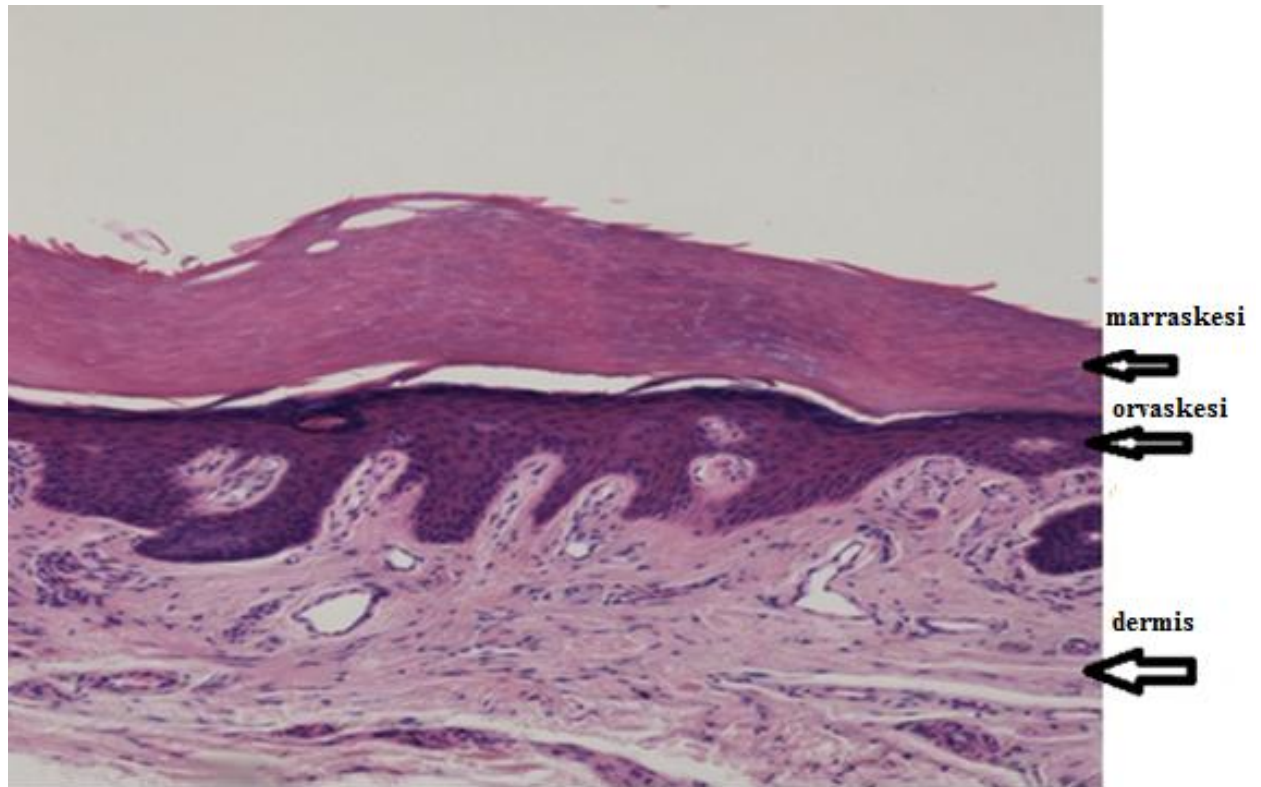


Kuva 34. Uroteeli laskostuneena 40x (H&E).

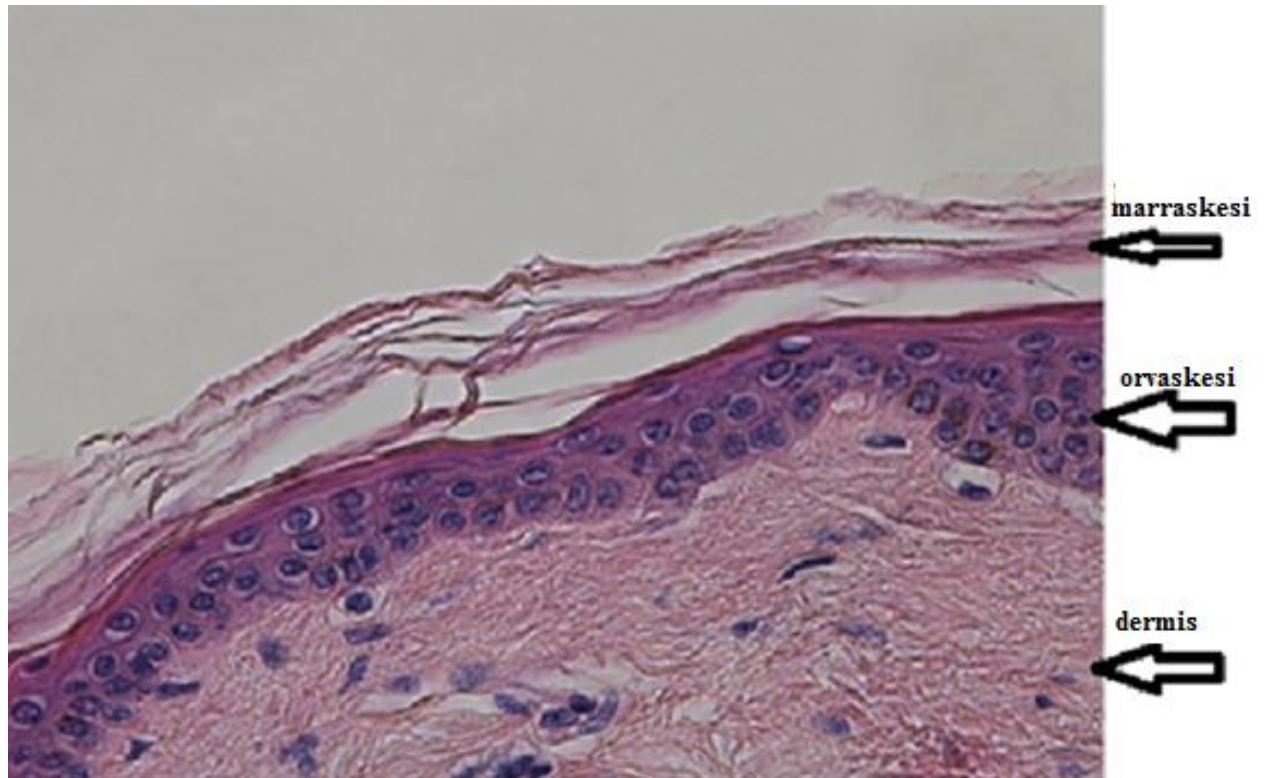
d) Iho

Iho (kuvat 35 ja 36) koostuu kolmesta pääkerroksesta: epidermiksestä, dermiksestä ja subkutiksesta. Epidermis eli orvaskesi koostuu kerrostuneesta levyepiteelistä ja epiteelisolujen lomassa on myös Langerhansin soluja sekä melanosyyttejä, jotka tuottavat auringon UV-säteilyltä suojamaa melaniinia. Epidermiksessä on neljä kerrosta: Pinnallisin osa on marraskesi eli keratiinikerros, joka koostuu kuolleista soluista ja keratiinista. Jyväissolukerros on sen alapuolella, sitten on okasolukerros ja alimmaisena on tyvisolukerros, joka koskettaa tyvikalvoa. Epidermis kiinnittyy tyvikalvovyöhykkeellä dermikseen. Dermis eli verinahka koostuu löyhästä sidekudoksesta, kollageenista ja elastisista säikeistä sekä fibroblasteista. Siinä on myös verisuonia ja ihon apuelimiä. Subkutis eli

ihonalaiskudos on syvin kerros ja se koostuu enimmäkseen rasvakudoksesta ja sidekudoksesta. Dermiksessä ja subkutiksessa on myös hiustuppirakenteita, tali- ja hikirauhasia sekä rauhastiehyitä. (Karhumäki ym. 2007; Young 2008 ym.; Niensted ym. 2009; Kallioinen & Stenbäck 2012.)



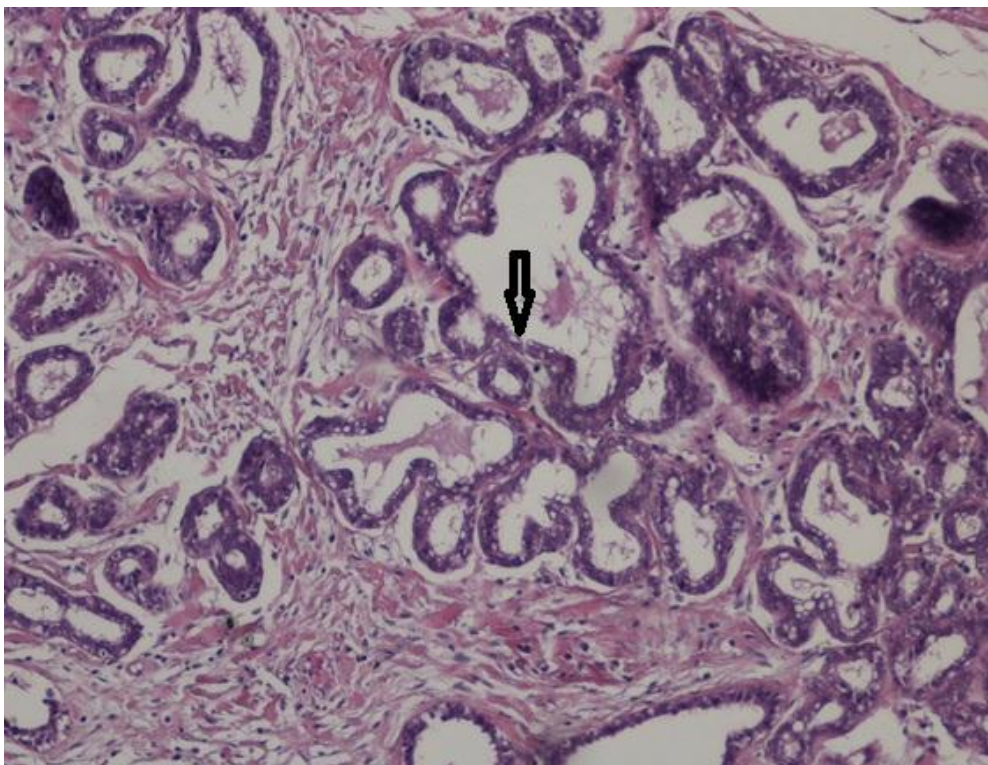
Kuva 35. Kerrostunutta levyepiteeliä (orvaskesi) paksusta ihosta 10x (H&E).



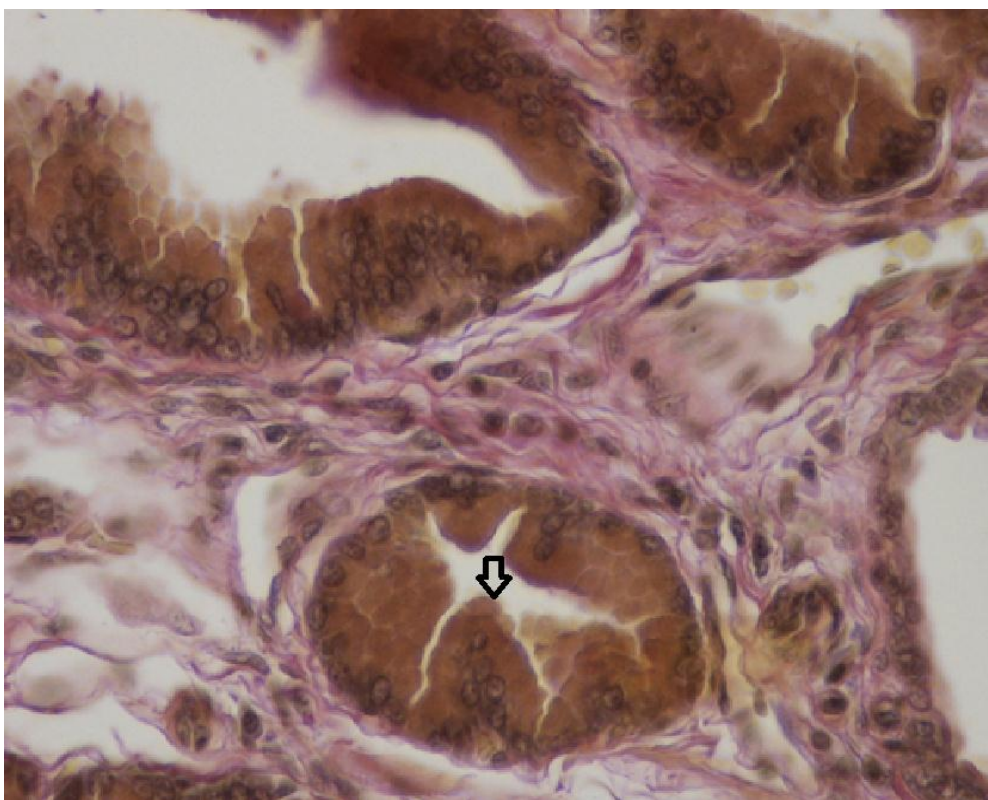
Kuva 36. Kerrostunutta levyepiteeliä ohuen ihon alueelta 40x (H&E).

4.2 Rauhaset

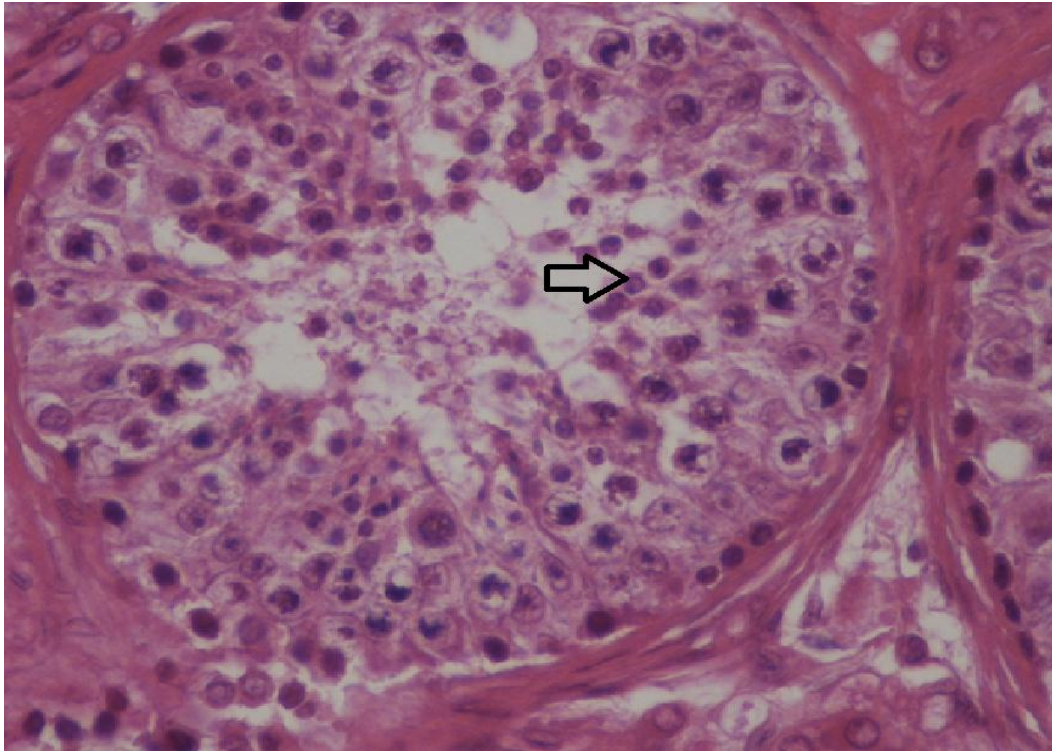
Avoeritteisellä eli eksokriinisella rauhasella on eritystie ihon epiteelin pintaan asti tai putkirakenteiden sisäosiin. Sisäeriterauhanen eli endokriininen rauhanen eli umpirauhanen erittää tuotteensa suoraan verenkiertoon. Rauhasen tiehyitä verhoaa epiteelikudos. (Niensted ym. 2009.) Kuvissa 37 - 39 on rauhasia.



Kuva 37. Maitorauhanen, epiteeli verhoaa rauhasrakenteita ja tiehyitä 40x (H&E).



Kuva 38. Eturauhasen epiteeliä 40x (vG).



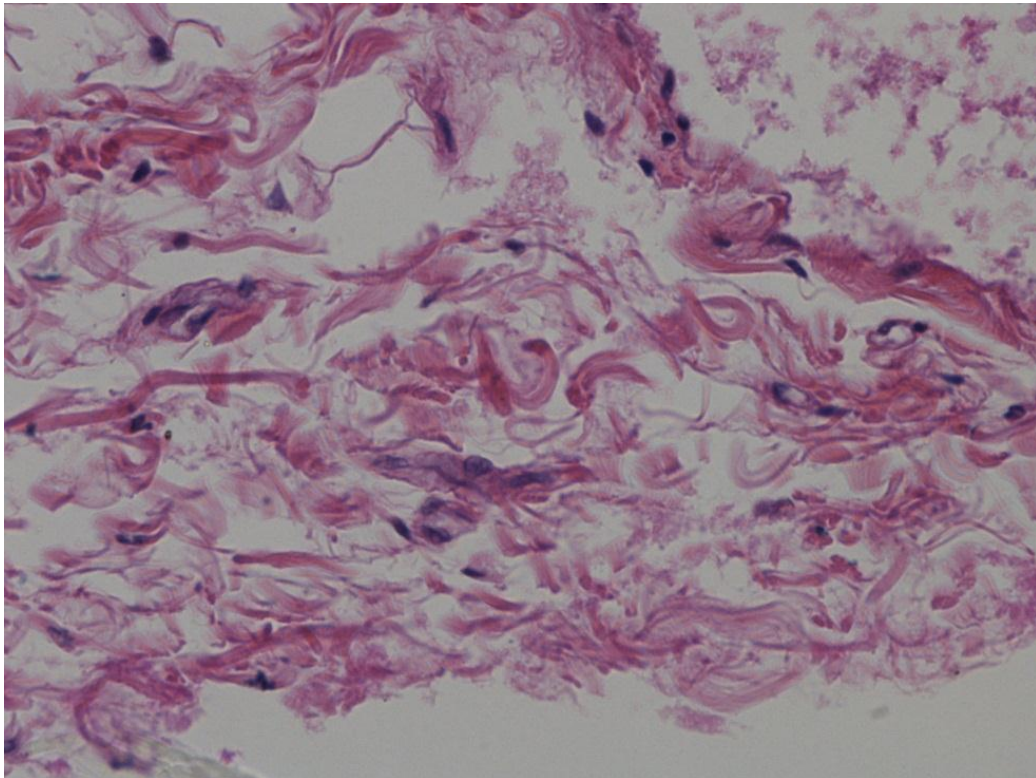
Kuva 39. Siemenepiteeliä kiveksen siementiehyissä 40x (H&E).

4.3 Sidekudokset eli tukikudos

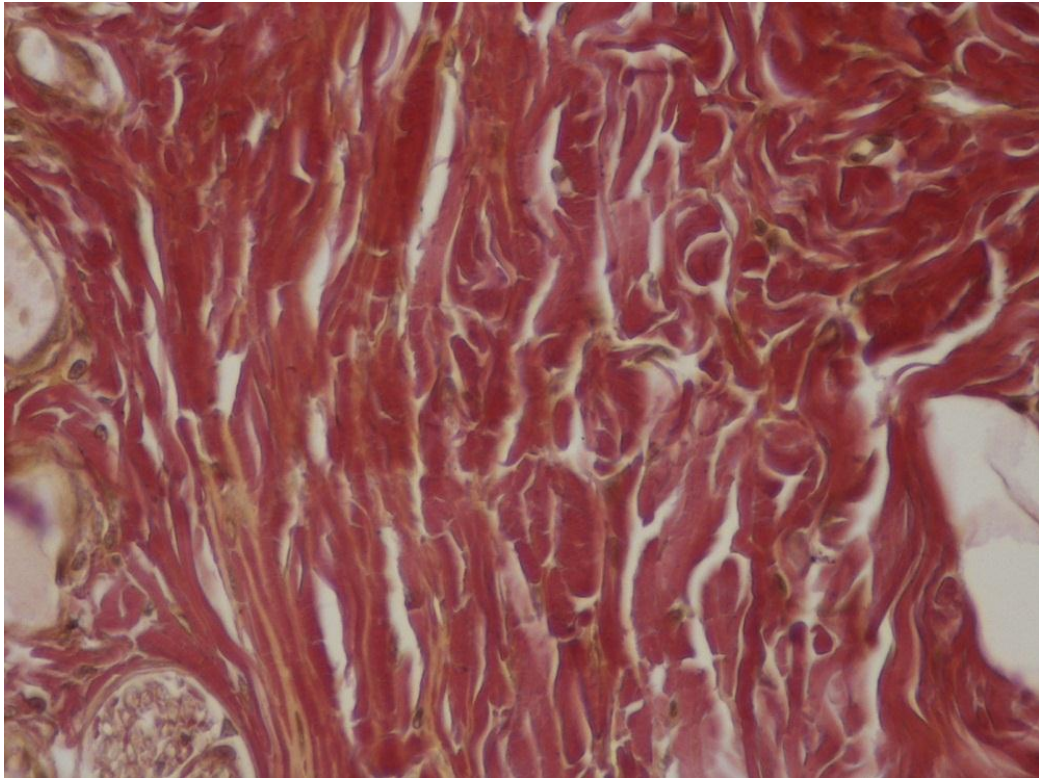
Tukikudokset toimivat elimistössämme tukirakenteina ja tukikudokseen kuuluvat side-, rasva-, rusto- ja luukudokset. Ne ovat muodostuneet alkioaikaisesta sidekudoksesta. Tavallisesti tukikudoksessa on soluväliainetta enemmän kuin soluja, poikkeuksena rasvakudos. Sidekudosten soluväliaineesta löytyy erilaisia syitä. Retikuliinisyyt eli ohuet verkkosyyt ovat tyypillisiä esimerkiksi imukudokselle, rauhasille ja rasvakudokselle ja niiden tarkoitus on tukea solun kudoksia. Liimasyt eli kollageenisyyt ovat syntyneet ohuista liimasäikeistä ja niitä on jokaisessa tukikudoksessa. Jänteet, siteet, ligamentit ja faskiat muodostuvat tiiviistä sidekudoksesta, jossa on runsaasti syitä väliaineena. Esimerkiksi suurissa verisuonissa ja keuhkoputkien seinämissä löytyy elastisia syitä eli kimmosyitä. (Karhumäki ym. 2007; Niensted ym. 2009.)

4.3.1 Varsinainen sidekudos

Sidekudoksen tyypillisin muoto on löyhä sidekudos (kuva 40) ja se esimerkiksi tilkitsee muiden kudosten ja elimien välisiä tyhjiä tiloja. Sidekudoksen soluväliaine muodostuu syistä, vedestä ja siihen liunneista fibrinoblastien tuottamista aineista. Kehittyvä sidekudossolu on fibroblasti ja valmis muoto on fibrosyytti. Ne tuottavat soluväliaineeseen syitä ja isokokoisia aineita. Lisäksi sidekudoksessa on makrofageja eli syöjäsoluja ja syöttösoluja eli mastsoluja. Tiivis sidekudos (kuva 41) sisältää vähemmän soluja sekä enemmän syitä. Jänteet tai ligamentit sisältävät paljon yhdensuuntaista kollageenisyytä. (Niensted ym. 2009.)



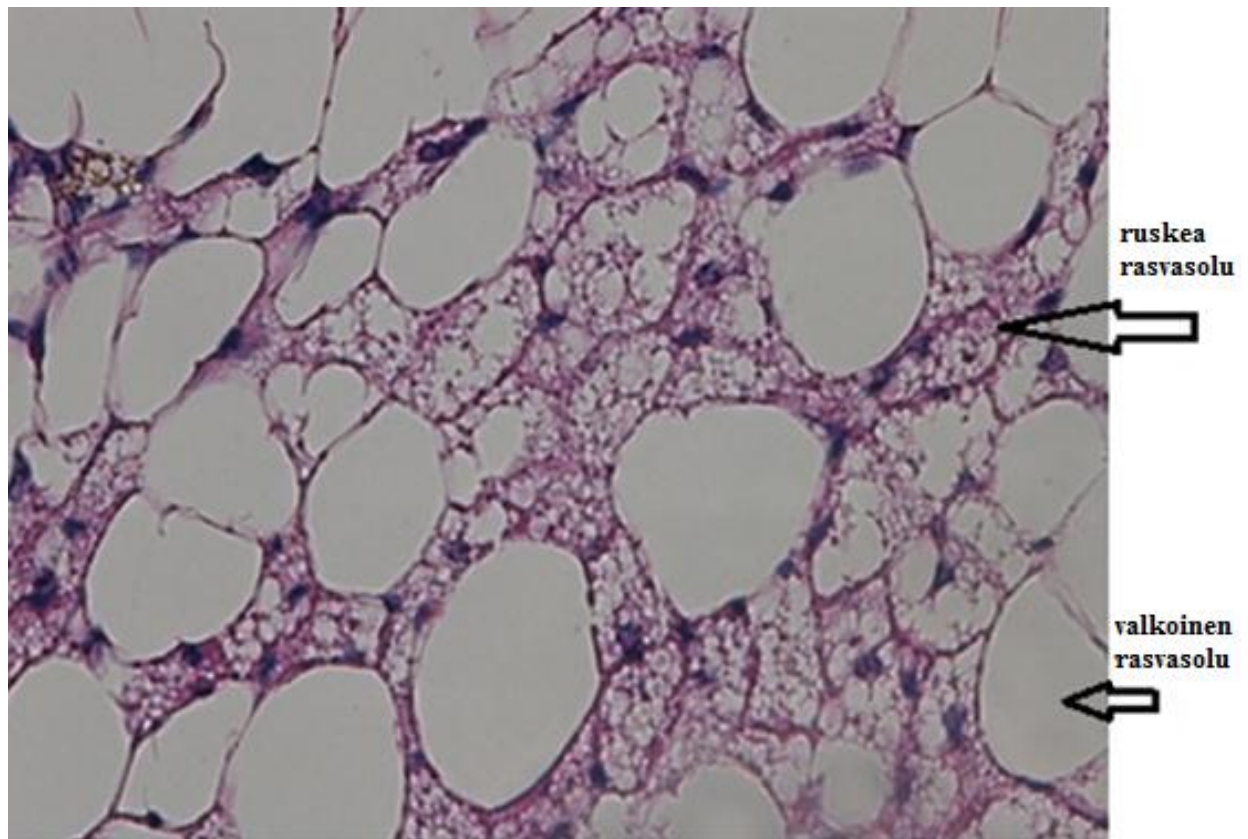
Kuva 40. Löyhää sidekudosta 40x (H&E).



Kuva 41. Tiivistä sidekudosta 40x (vG).

4.3.2 Rasvakudos

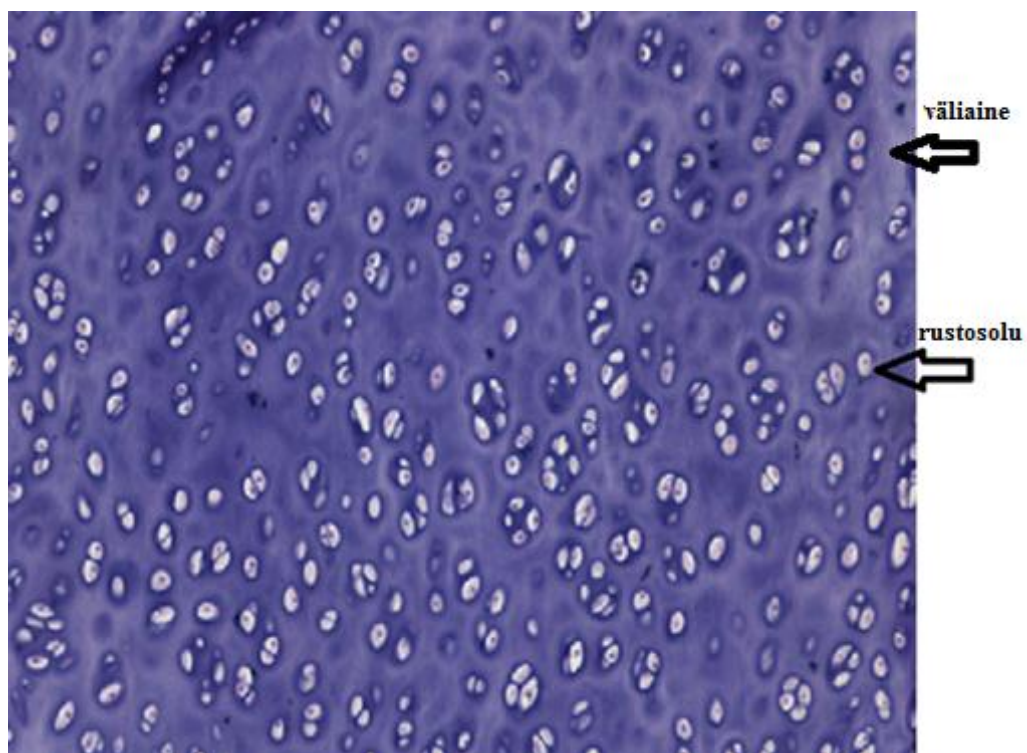
Rasvakudos (kuva 42) koostuu rasvasoluista ja se sisältää vähän soluväliainetta. Rasvasolun sytoplasmassa on enimmäkseen rasvaa ja kapeana reunuksena solukalvon sisäpuolella ovat soluorganellit ja tuma. Rasvakudos on 80-prosenttisesti rasvaa ja lisäksi muun muassa proteiineja sekä vettä. Esimerkiksi ihonalaiskudos koostuu pääasiassa rasvasoluista. (Niensted ym. 2009.)



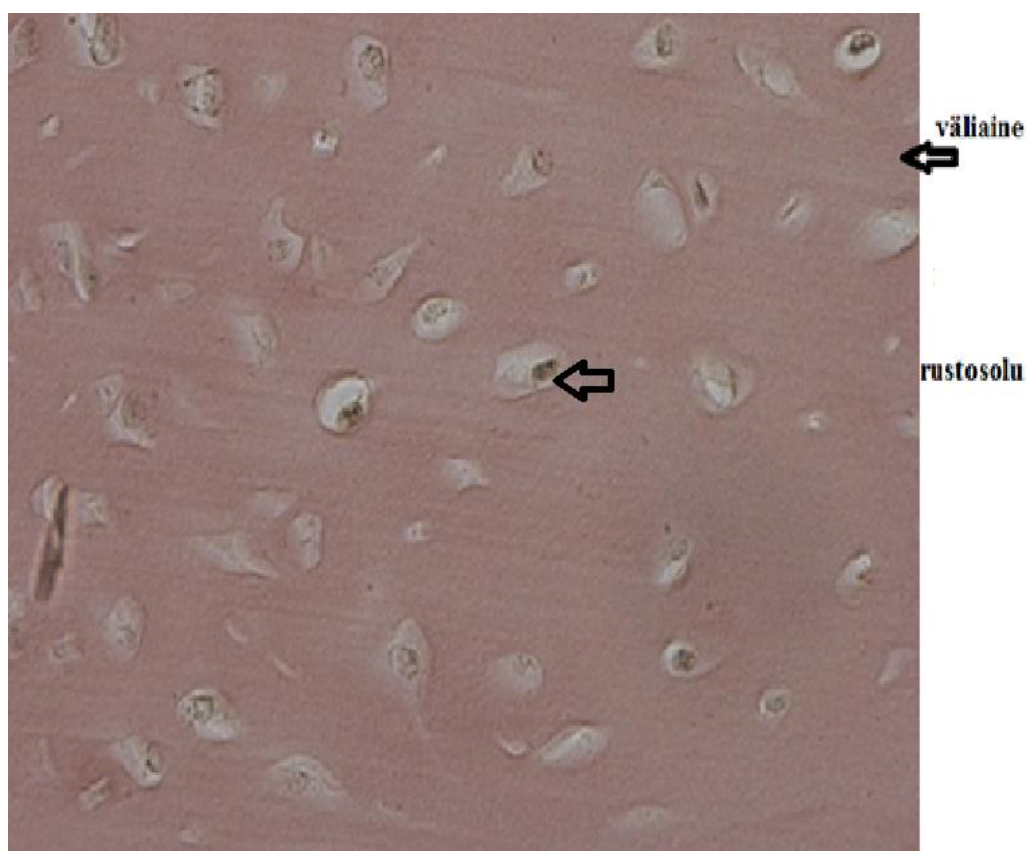
Kuva 42. Valkeaa ja ruskeaa rasvaa 40x (H&E).

4.3.3 Rustokudos

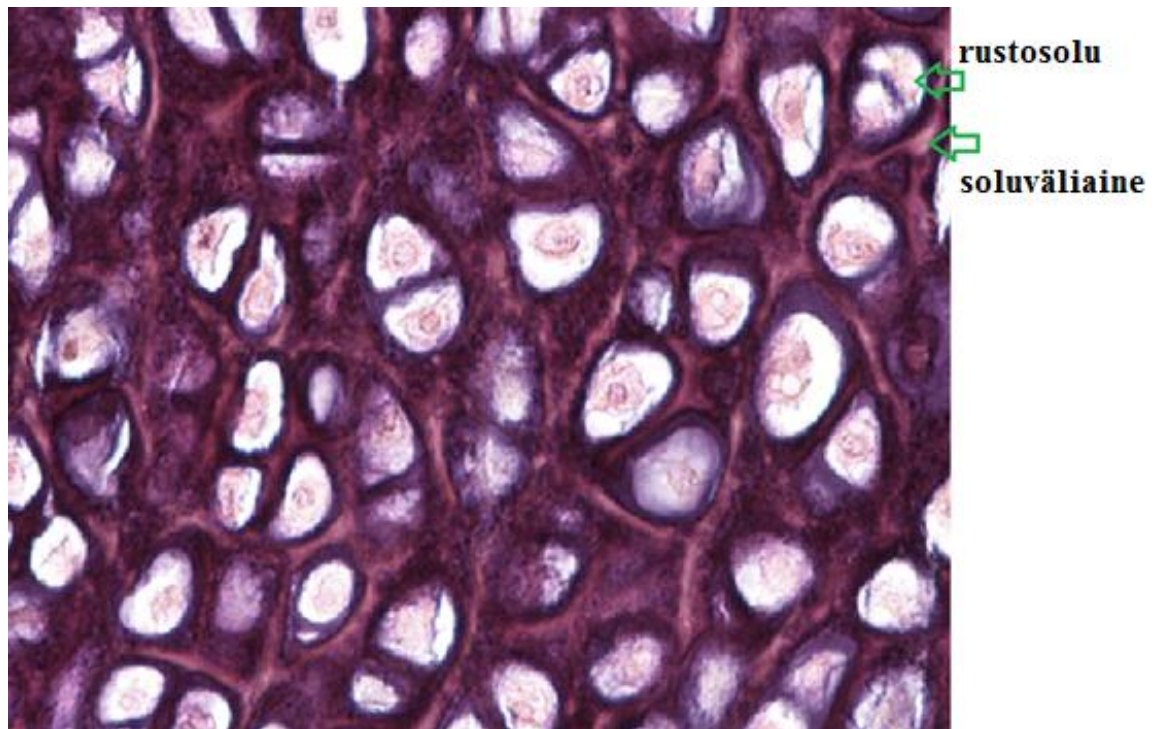
Rustokudosta on esimerkiksi nivelpinnoilla, henkitorvessa, korvalehdessä ja nenän joustavassa osassa. Kudos on sidekudosta jäykempi, mutta joustavampaa kuin luukudos. Rustokudos on verisuoneton ja hermoton. Rustokalvo on rustokudoksen päällä ja siinä on sidekudosta ja verisuonia. Rustokalvon tehtävä on ravita rustoa. Hyaliinirusto eli lasirusto (kuva 43) on kimmoisaa, hieman läpikuultavaa ja sinertävää. Sitä on luiden nivelpinnoilla ohut kerros, jotta luut voivat liikkua sujuvasti nivelten rakenteissa. Syyruston (kuva 44) soluväliaine sisältää paljon kollageenisyytiä ja siitä muodostuvat esimerkiksi nikamavälilevyjen reunaosat. Kimmoruston (kuva 45) soluväliaine sisältää runsaasti kimmosäikeitä ja kimmorustoa on esimerkiksi korvanlehdessä. (Niensted ym. 2009.)



Kuva 43. Lasirustoa 40x (H&E).



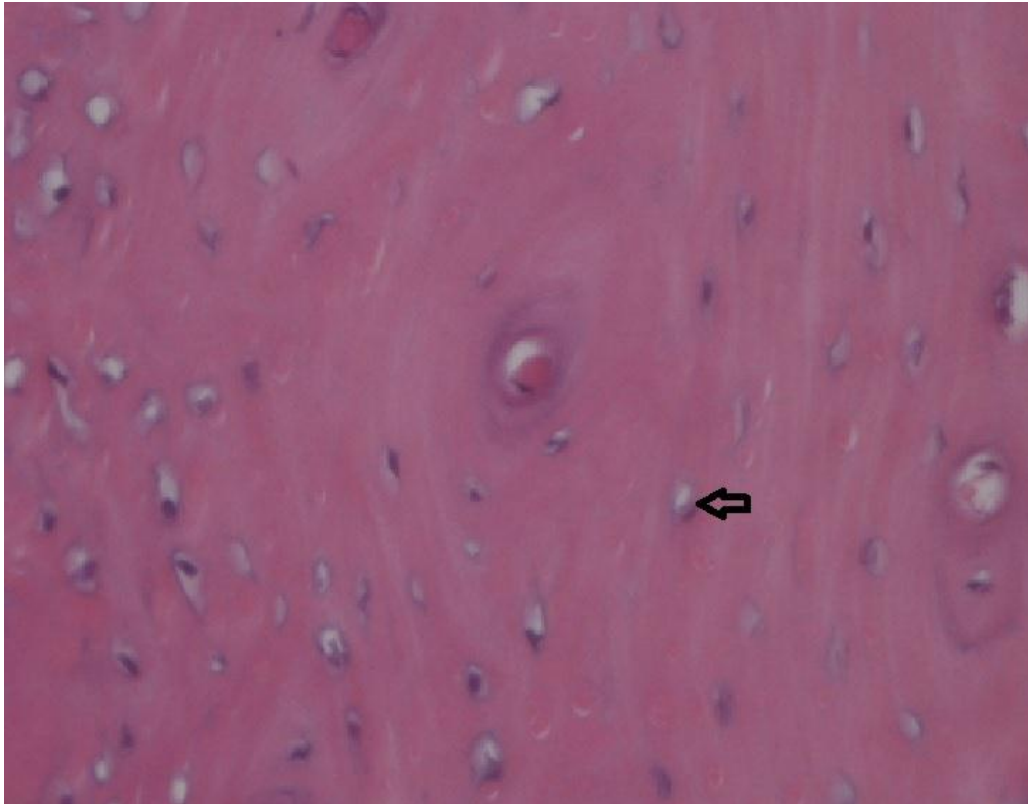
Kuva 44. Syyrustoa 40x (H&E).



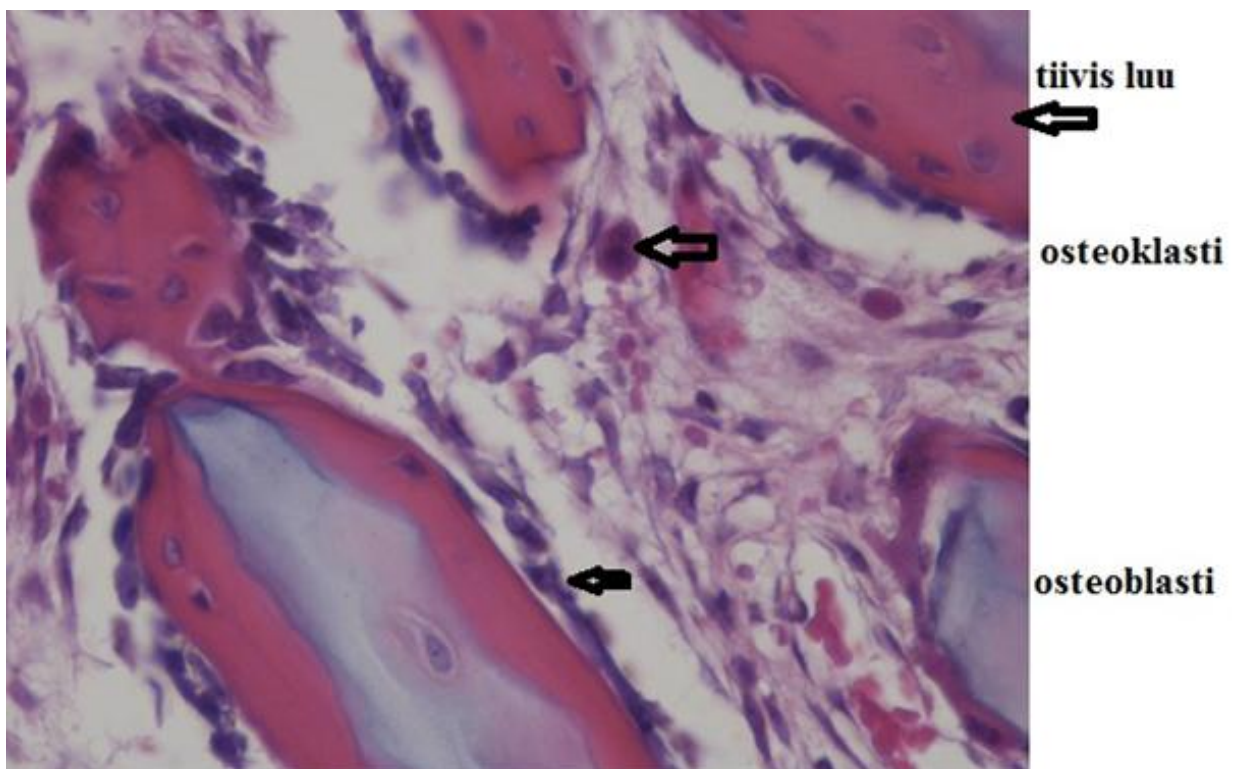
Kuva 45. Kimmorustoa 40x (H&E).

4.3.4 Luukudos

Luu muodostuu luusoluista ja soluväliaineesta, joka koostuu enimmäkseen tyyppin I kollageenista. Osteoblastit ovat luuta muodostavia soluja ja osteosyytit ovat puolestaan kypsiä luun sisäisiä luusoluja. Tiiviissä luussa (kuva 46) osteosyytit ovat lieriönmuotoisesti verisuonen ympärillä. Näitä lieriömäisiä alueita kutsutaan osteoniksi. Niissä osteosyytit ovat jääneet tuottamansa väliaineen sisälle, mutta ne ovat kuitenkin yhteydessä keskenään. (Niensted ym. 2009.) Osteoklastit ovat syöjäsoluja, jotka hajottavat eli syövyttävät luuta (Young ym. 2008). Luukudoksen pinnalla on sidekudoksinen luukalvo. Tiiviin luun alla puolestaan on luuhohkaa (kuva 47) ja siinä luukudos on palkkeina ja luuydin on luuydinontelossa hohkaluun sisällä. (Niensted ym. 2009.)



Kuva 46. Tiivistä luuta 40x (H&E). Nuoli osoittaa osteosyyttiä.



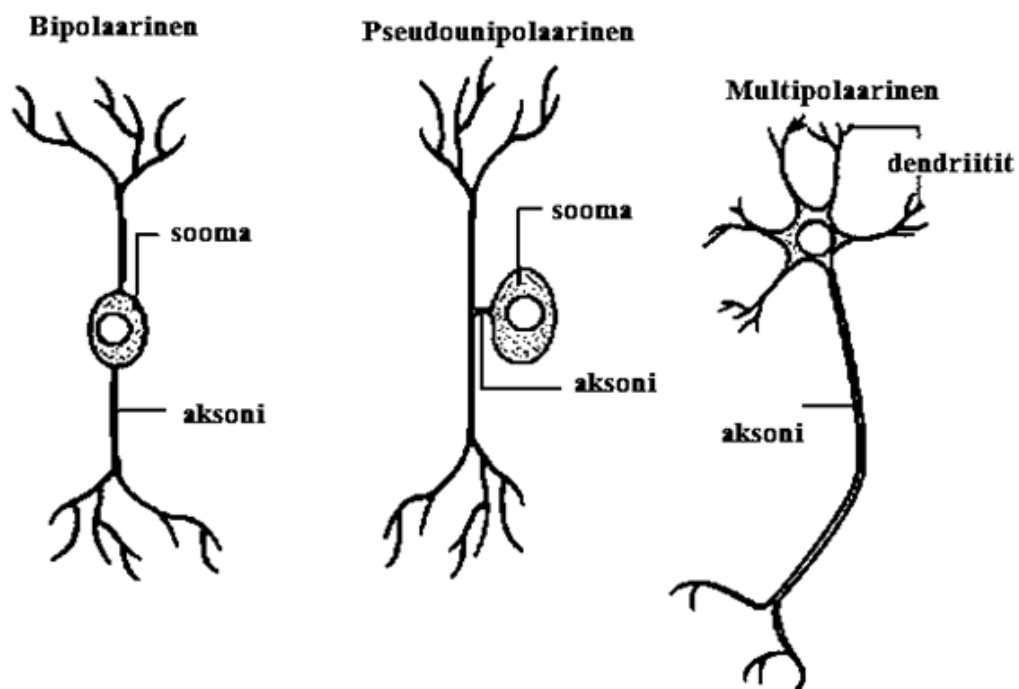
Kuva 47. Hohkaluuta 40x (H&E).

4.3.5 Hermokudos

Hermokudos koostuu hermosoluista eli neuroneista sekä tukisoluista eli gliasoluista. Hermosto käsittää anatomisesta näkökulmasta keskus- ja ääreishermoston. Keskushermostolla tarkoitetaan aivoja ja selkäydintä ja ääreishermostolla aivohermoja, selkäydinhermoja, autonomisen hermoston perifeerisiä osia sekä aistireseptoreja. Hermosto ohjaa elimistömme toimintoja yhdessä esimerkiksi hormonien kanssa. (Niensted ym. 2009; Young ym. 2008.)

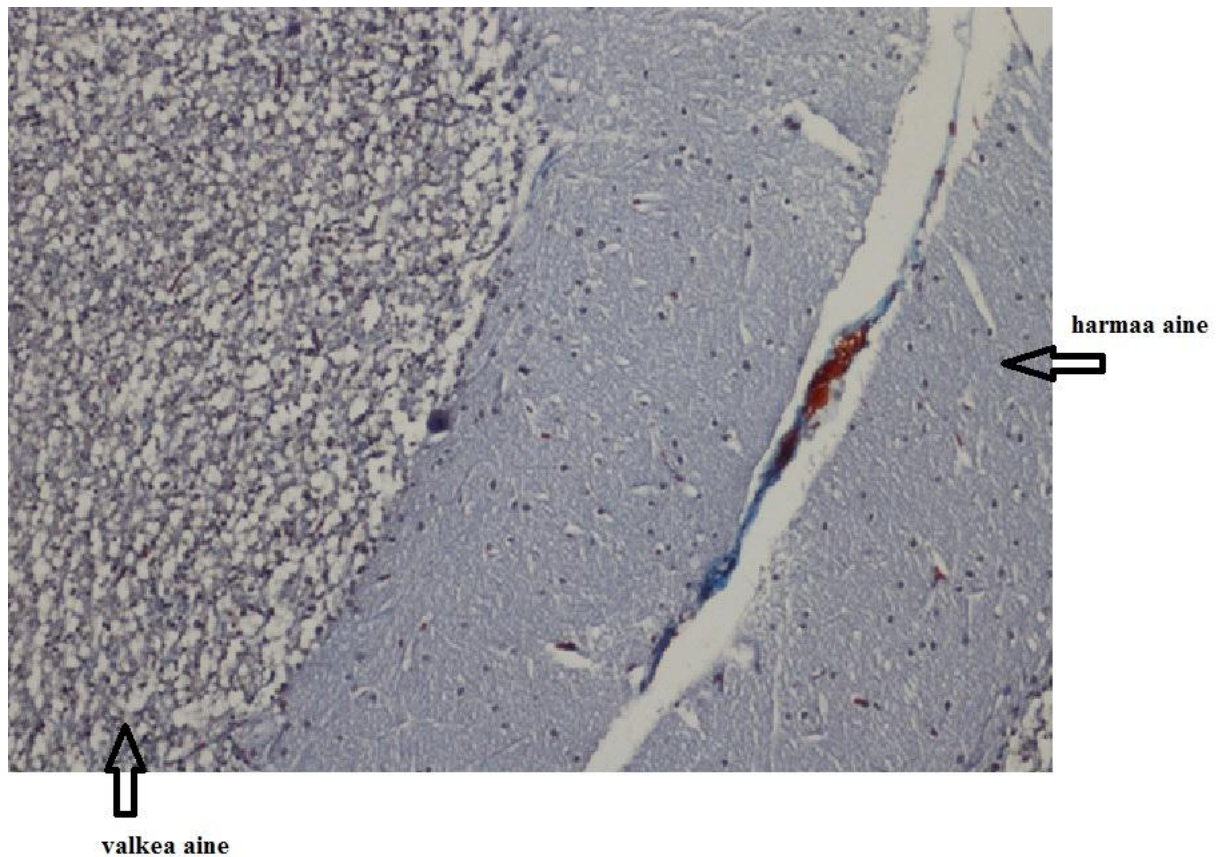
4.3.5.1 Hermosolun eli neuronin rakenne

Neuroneja on erinäköisiä, mutta yleensä neuroneissa on sooma eli solukeskus, yksi viejähaarake eli aksoni sekä monia dendriittejä eli tuojahaarakkeita. Neuronin aksoni kuljettaa hermoimpulssin eteenpäin ja välittäjäaineiden välityksellä impulssi siirtyy toisiin hermosoluihin. (Niensted ym. 2009.) Neuronit voidaan luokitella kolmeen pääluokkaan (kuva 48) aksonin ja dendriitin sijoittautumisen mukaan. Yleisin on multipolaarinen neuroni ja kaksi muuta neuronityyppiä ovat bipolaarinen ja pseudounipolaarinen. (Young ym. 2008.)



Kuva 48. Hermosolu- eli neuronityypit (mukaellen Yale Systems Cell Biology 2010).

Ääreishermoston gangliossa eli erillisissä hermosolmukkeissa tai keskushermoston harmaassa aineessa on hermosolujen tumalliset osat. Hermosolujen viejähaarakkeet eli aksonit muodostavat vaalean aineen. Myeliini on gliasolujen tuottama rakenne aksonien ympärille. (Niensted ym. 2009.) Kuvassa 49 keskushermoston harmaa ja valkea aine.



Kuva 49. Harmaa ja valkea aine 40x (Massonin kolmoisvärjäys).

4.3.5.2 Myelinisaatio

Ääreishermostossa monia aksoneja ympäröivät Schwannin solut muodostaen myeliinitupen. Myeliinitupessa on välejä eli Ranvierin kuroutumia. (Niensted ym. 2009.) Keskushermostossa myelinisaatiosta vastaavat oligodendrosyytit (Young ym. 2008).

4.3.5.3 Keskushermosto

Aivo ja selkäydin jaetaan edelleen harmaaseen ja valkoiseen aineeseen. Harmaa aine on enimmäkseen neuronien soomia. Valkoinen aine koostuu akso-neista, jotka ovat myelinisoituneita. Gliasoluja on neljää eri tyyppiä. (Young ym. 2008.) Oligodendrosyytit muodostavat myeliinitupin, astrosyytit ympäröivät esimerkiksi aivokudoksen hiusverisuonia ja ovat osallisena veri-aivoesteen muodostamisessa, mikroglia-solut ovat syöjäsoluja (Niensted ym. 2009) ja ependy-maalisolut verhoavat aivokammioiden seinämää (Young ym. 2008).

4.3.5.4 Isoaivot

Isoaivot käsittävät suurimman osan keskushermostoa. Isoaivojen pintakerros eli aivokuori koostuu harmaasta aineesta, jossa ovat hermosolujen tumalliset solukeskukset ja hermosolujen väliset synapsit. Sen alapuolella on vaalea aine ja sen sisällä on tyvitumakkeita, jotka ovat harmaan aineen saarekkeita muiden aivo-osien alueella. (Niensted & Kallio 2005.)

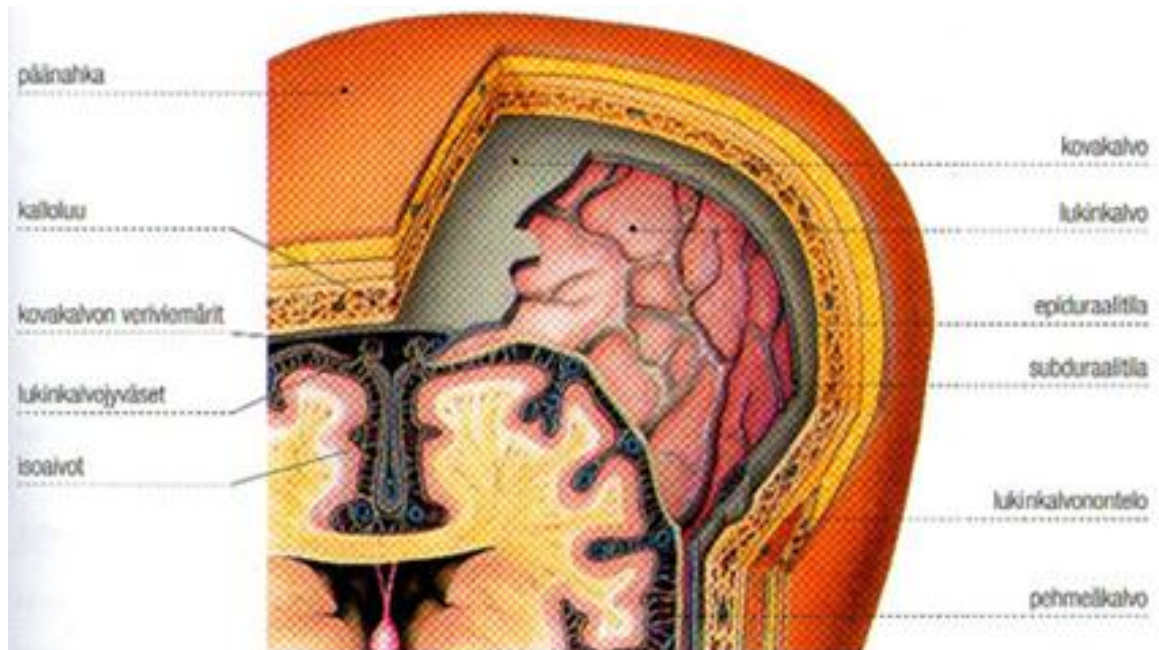
4.3.5.5 Selkäydin

Selkäytimen keskuskanavan lähellä on harmaata ainetta. Se on enimmäkseen neuronien soomaosia ja dendriittejä sekä gliasoluja. Harmaa-aine on järjestäytynyt selkäytimessä H-kirjaimen muotoiseksi alueeksi ja valkea aine on harmaan aineen ympärillä. (Niensted ym. 2009.)

4.3.5.6 Aivokalvot

Aivoja ja selkäydintä ympäröivät aivo-selkäydinkalvot (kuva 50). Ne ovat pääsääntöisesti sidekudoksesta rakentuneita kalvoja. Uloin kalvo on kovakalvo ja se on kallon luuiden alapuolella ja lukinkalvo on kovakalvon alapuolella. Se kulkee kovakalvon mukaisesti ja kovakalvon ja lukinkalvon välissä on subduraalitala. Lukinkalvosta lähtee sisäänpäin sidekudosjuosteita, jotka yhdistyvät pehmeäkalvoon, joka verhoilee aivojen ja selkäytimen pintaa. Aivo-selkäydistä

kiertää pehmeäkalvon ja lukinkalvon välisessä tilassa eli lukinkalvo-ontelossa. (Niensted. ym. 2009.)



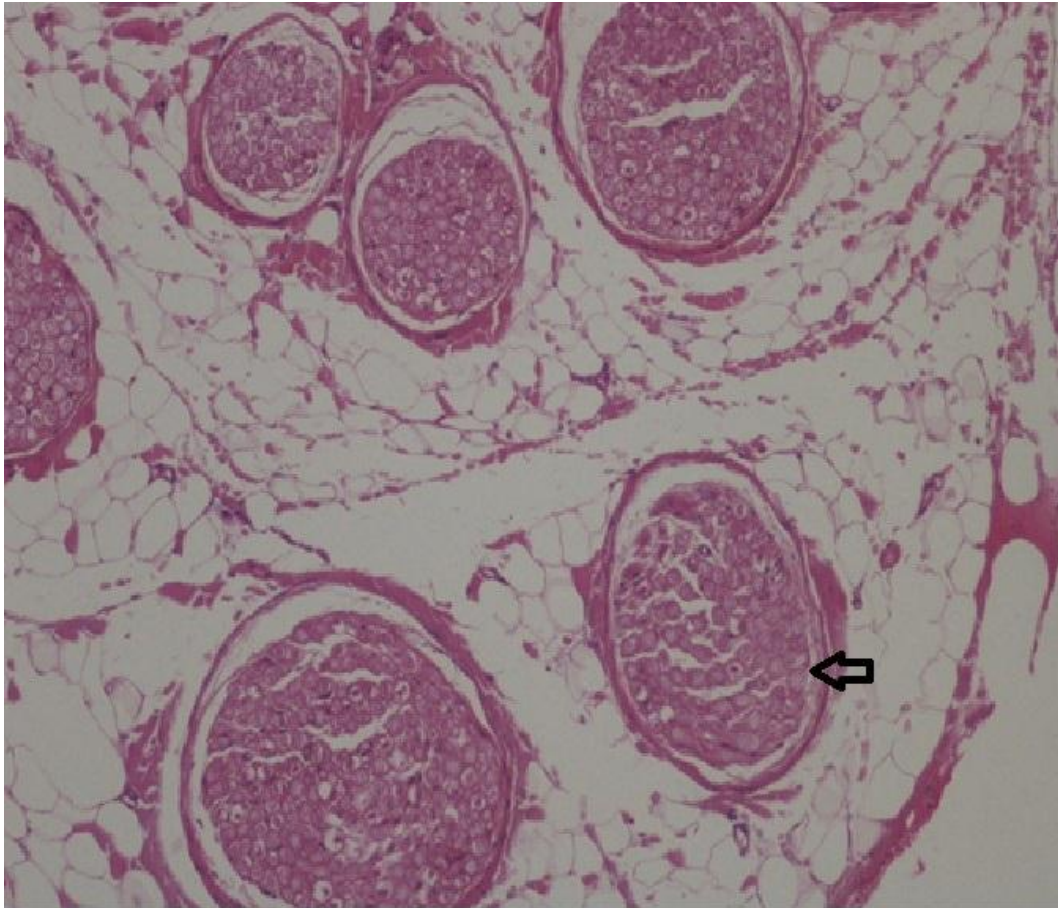
Kuva 50. Aivokalvot (Kustannusosakeyhtiö Perhemediat Oy 2010).

4.3.5.7 Aivo-selkäydinneste eli likvori

Aivoselkäydinnestettä eli likvoria muodostuu jokaisesta aivokammioista, kammioiden suonipunoksista filtoitumalla verestä. Suonipunokset koostuvat valtimoista ja hiussuonista. Aivoselkäydinneste kulkeutuu aivokammioista lukinkalvon onteloon ja poistuu sieltä laskimoverenkiertoon araknoidaalivillusten eli lukinkalvojuvästen läpi. (Niensted ym. 2009.)

4.3.5.8 Ääreishermosto

Selkäydin- (31 paria) ja aivohermot (12 paria) koostuvat aksoneista sekä tukikudoksesta. Tavallisesti hermo sisältää myelinisoituneita sekä myelinisoitumattomia, motorisia ja sensorisia, autonomisia sekä somaattisia hermosolujen aksoneita. Solujen soomat sijaitsevat ganglioissa. (Niensted ym. 2009.) Kuvassa 51 on hermon poikkileikkaus.



Kuva 51. Ääreishermon poikkileikkaus 40x (H&E). Kuvassa nuolella osoitettu aksonikimppu.

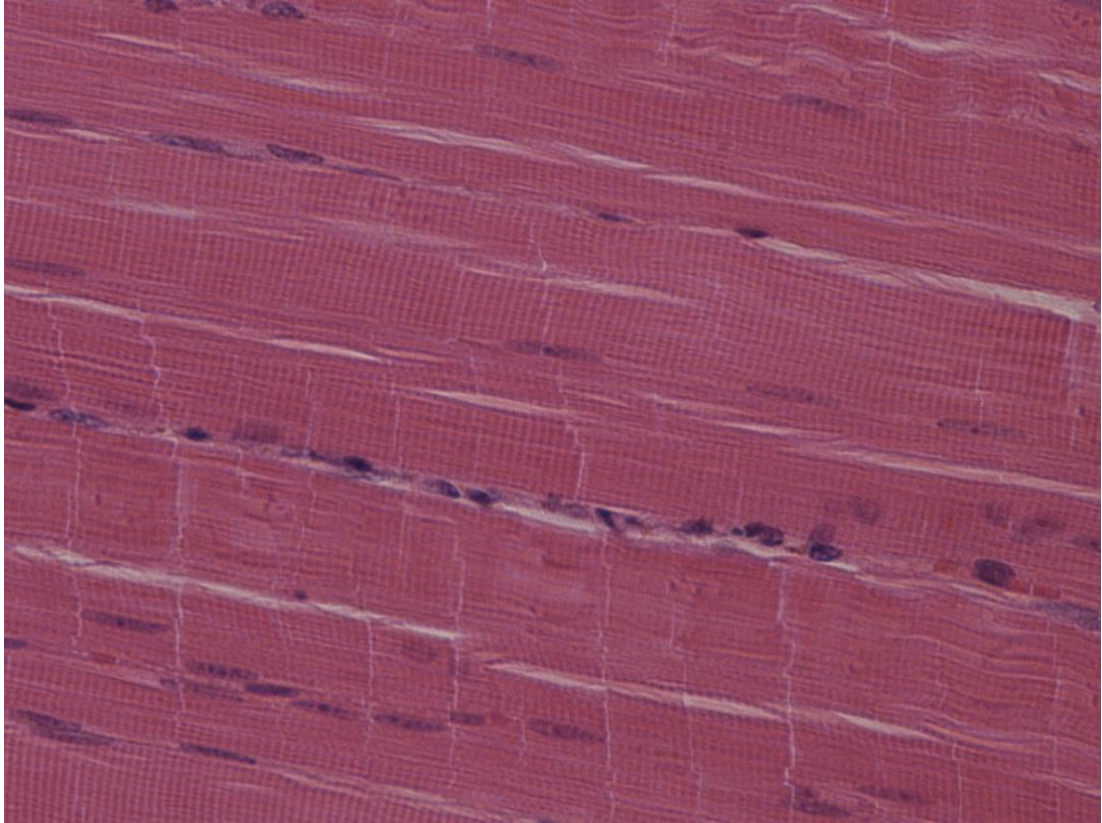
4.3.6 Lihaskudos

Poikkijuovainen lihaskudos, sileä lihaskudos sekä sydänlihaskudos ovat lihaskudoksen alatyypit. Lihaskudos muodostuu enimmäkseen lihassyistä eli lihassoluista sekä soluväliaineesta. Lihassyiden väleissä on sidekudosta tukemassa lihassykimppuja ja estämässä lihassolujen ylivenymisen. (Niensted ym. 2009.)

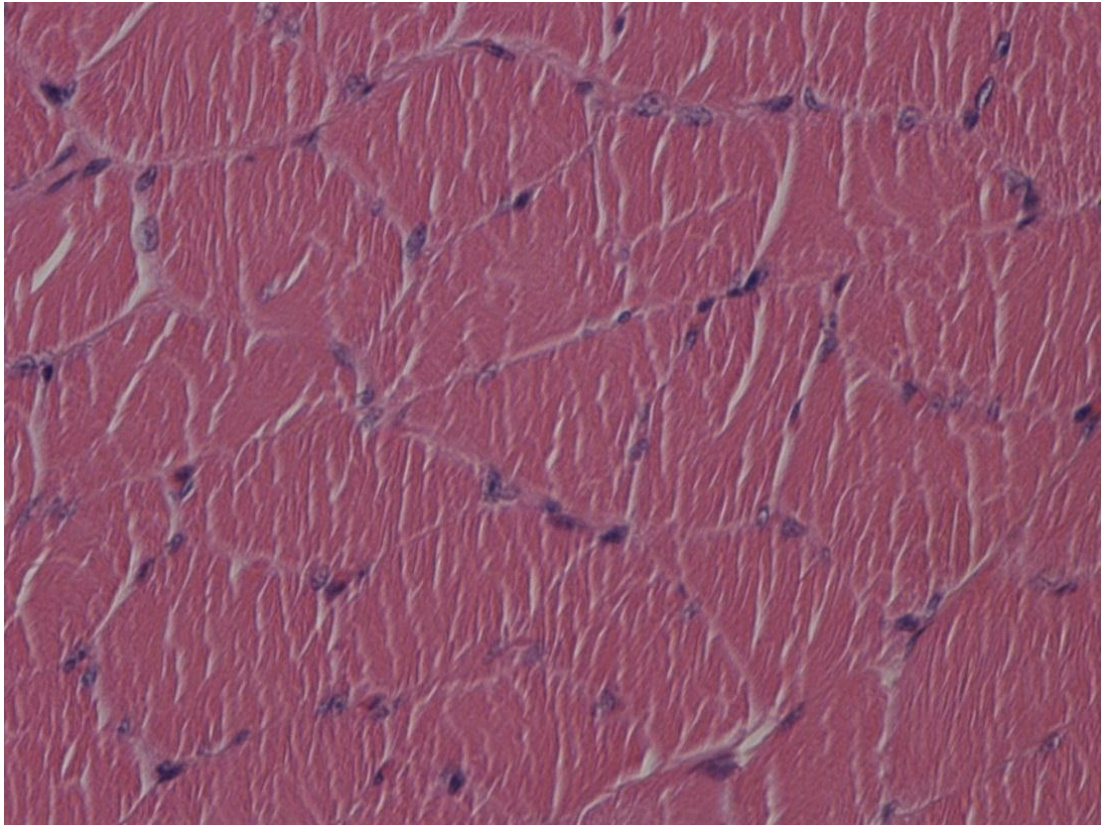
4.3.6.1 Poikkijuovainen lihaskudos

Poikkijuovaisia lihassoluja (kuvat 52 ja 53) on tahdonalaisissa luustolihaksissa. Solut ovat monitumaisia, tumat ovat solun laidoilla ja lihassolut ovat sijoittuneet lihaksessa tavallisesti pituussuuntaisesti. Jokainen lihassy muodostuu pitkitäissuuntaisista fibrilleistä, jotka sisältävät filamentteja. Filamentit muodostuvat aktiini- ja myosiinifilamenteista, jotka vastaavat lihassolujen supistumisesta.

Poikkijuovaiset lihassolut jaetaan hitaisiin ja nopeisiin. Väriltään punainen lihassolu on hidas ja kestävä ja valkoinen lihassolu on nopea, mutta se väsy nopeasti. (Niensted ym. 2009.)



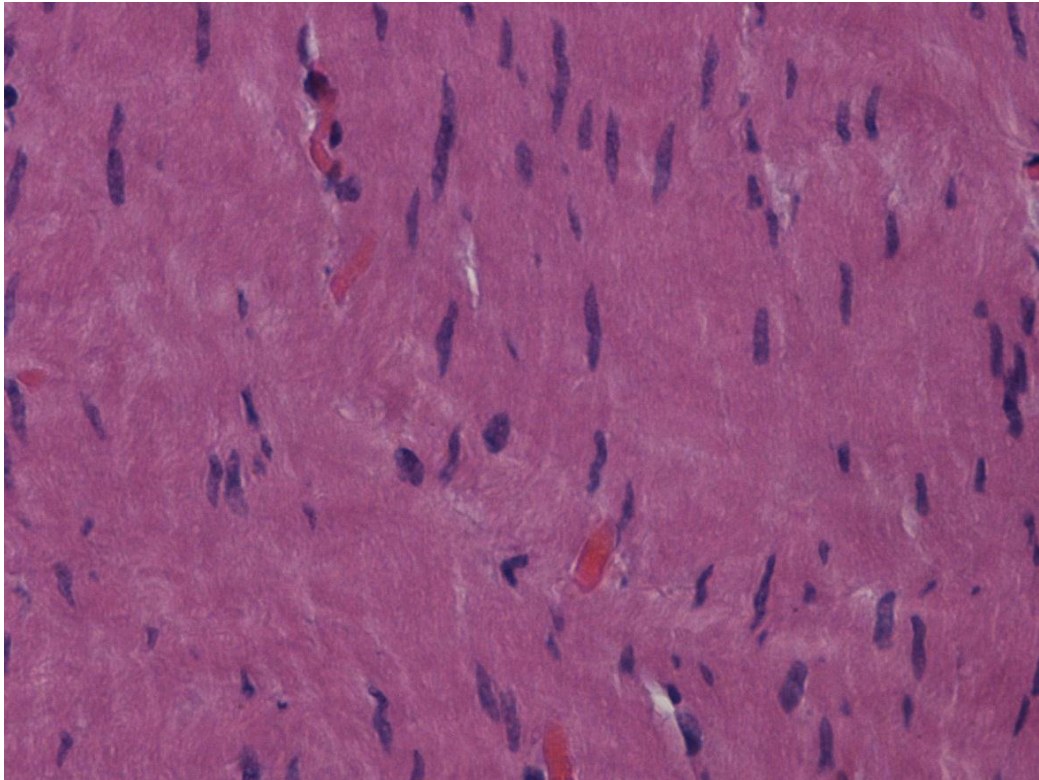
Kuva 52. Poikkijuovainen lihaskudos 40x (H&E).



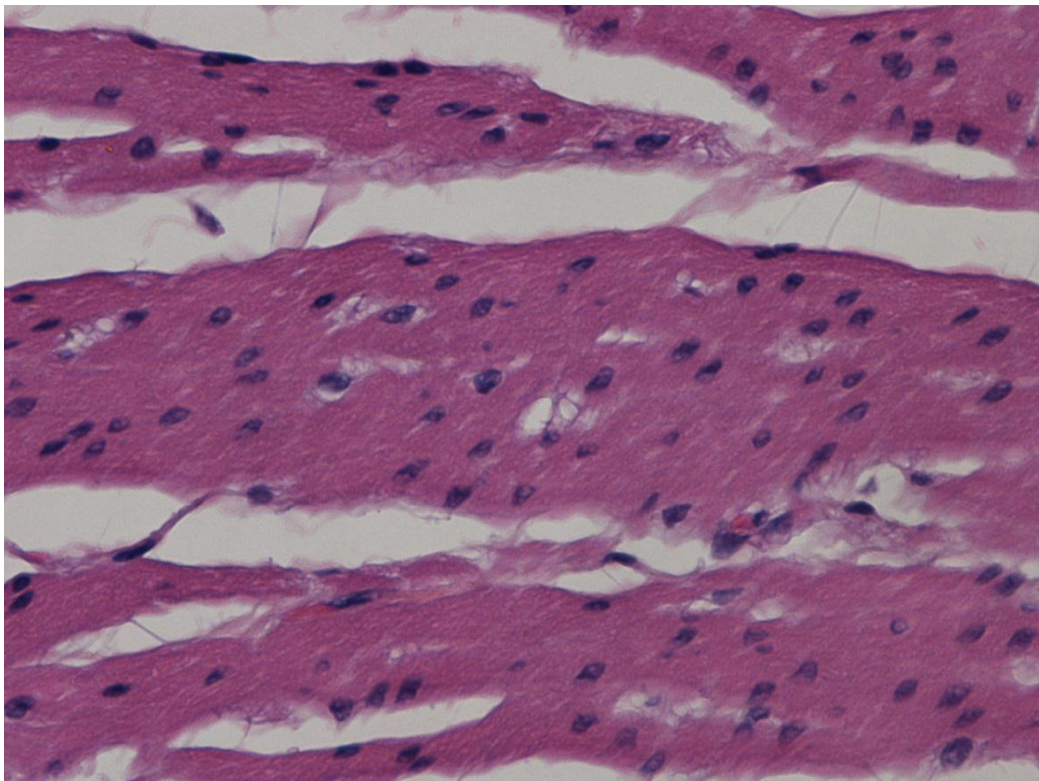
Kuva 53. Poikkijuovainen lihaskudos 40x (H&E).

4.3.6.2 Sileä lihaskudos

Sileää lihaskudosta (kuvat 54 ja 55) on sukupuoli- ja virtsaelimistön rakenteissa sekä verisuonten seinämässä, hengitysteiden ja ruoansulatuskanavan seinämässä. Sileässä lihaskudoksessa solut ovat kooltaan pienempiä kuin poikkijuovaisessa ja solut ovat yksitumaisia. (Niensted ym. 2009.)



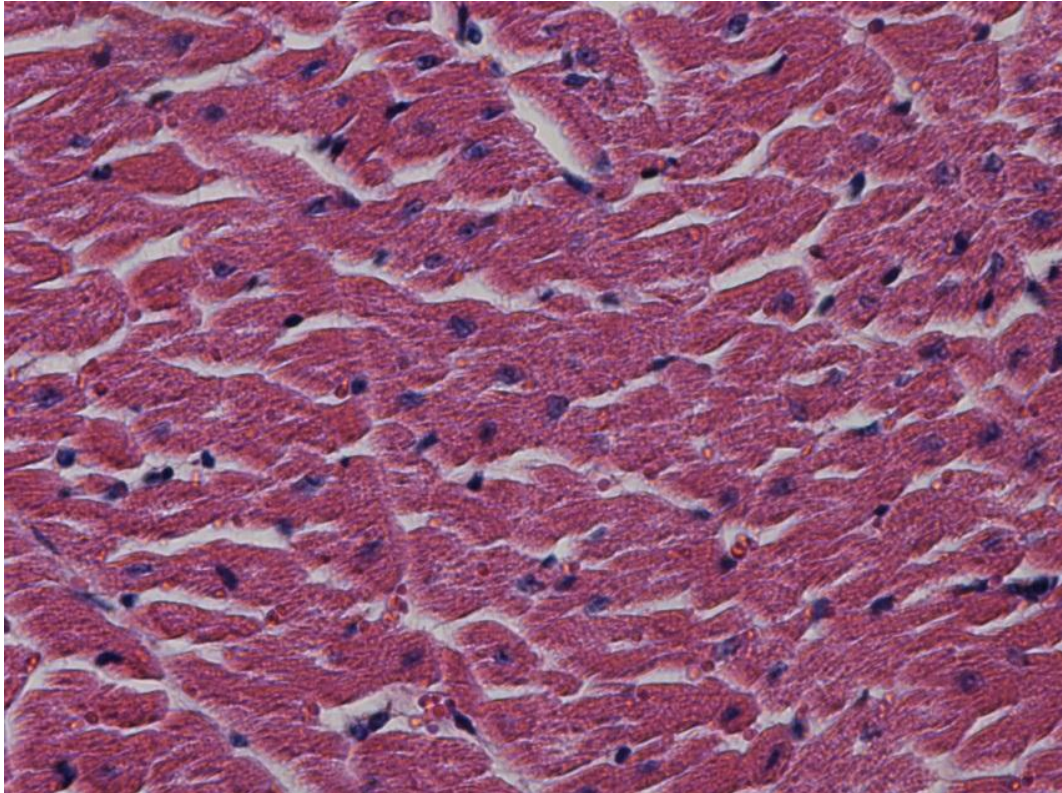
Kuva 54. Sileä lihaskudos 40x (H&E).



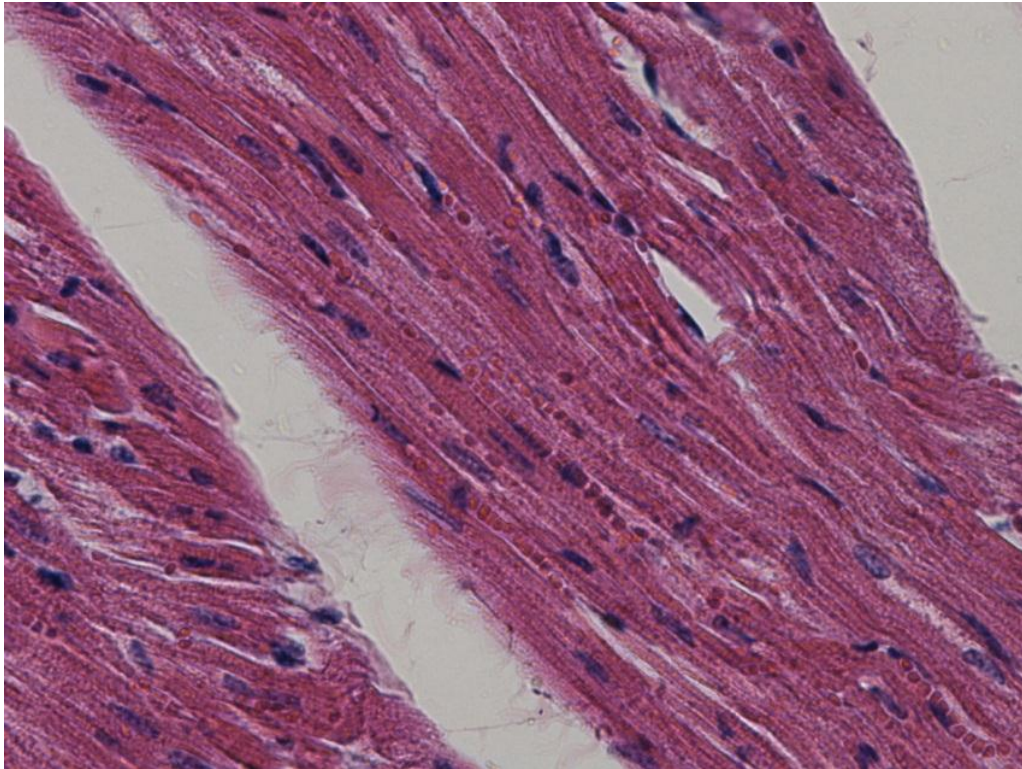
Kuva 55. Sileä lihaskudos 40x (H&E).

4.3.6.3 Sydänlihaskudos

Sydänlihaskudos (kuvat 56 ja 57) muodostuu poikkijuovaisista soluista ja niissä on yksi tuma. Solun koko on suurempi kuin sileiden lihassolujen ja lihassyöt voivat olla haarautuneita ja lihassolun pää kiinnittyy toiseen lihassoluun. (Niensted ym. 2009.)



Kuva 56. Sydänlihaskudosta 40x (H&E).



Kuva 57. Sydänlihaskudos 40x (H&E).

4.3.6.4 Hermo-lihasliitos

Hermo-lihasliitoksessa jokaiseen lihassolukimppuun kulkee yksi aksoninhaara. Lihassyssä on kohouma eli motorinen päätelevy hermo- ja lihassolun liittymäkohdassa. Hermosolu saa aikaan lihassolujen supistumisen välittäjäaineiden välityksellä. (Niensted ym. 2009.)

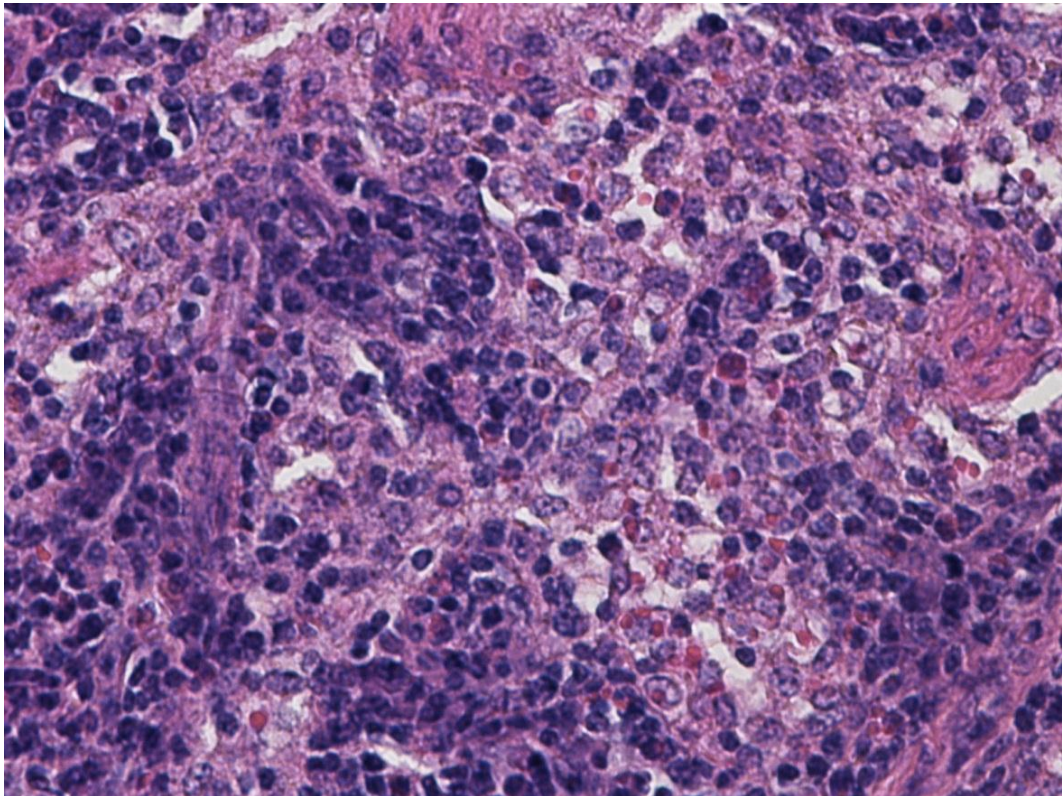
4.4 Imukudos eli lymfaattinen kudos

Esimerkiksi imusolmukkeet, perna ja kateenkorva sisältävät imukudosta eli lymfaattista kudosta. Imukudos sisältää imusoluja eli lymfosyytteja sekä lymfosyyttien esiasteita. (Karhumäki ym. 2007; Niensted ym. 2009.)

4.4.1 Imusuonet ja imusolmukkeet

Imuhiussuonet eli lymfaattiset kapillaarit ovat tyvikalvottomia suonia, muuten niiden rakenne muistuttaa hiusverisuonen seinämärakennetta. Imusuonet sisältävät laskimoiden tapaan taskuläppiä. Imusuonien lomassa on imusolmukkeita

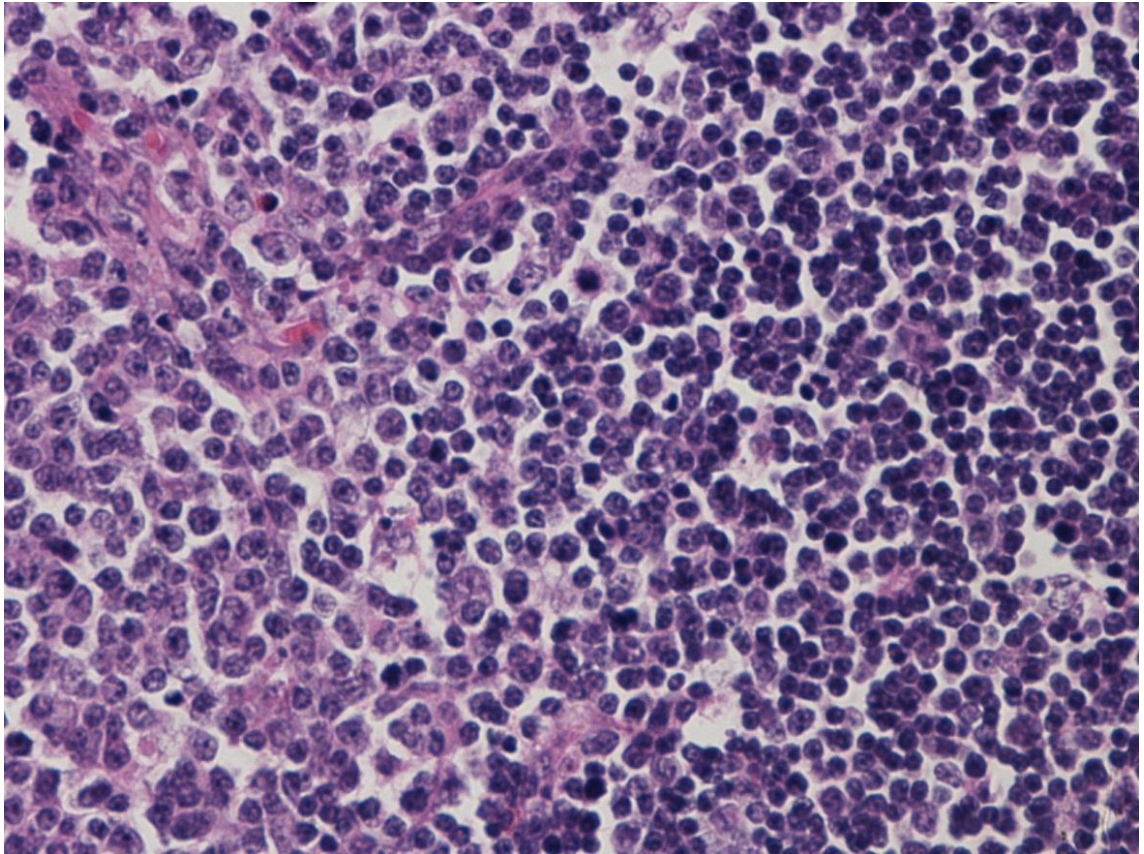
eli lymfonoduksia. Imusolmukkeet näyttävät pavun muotoisilta ja ne ovat tavallisesti ryhmittäin. Imusuonet tuovat imunesteen solmukkeeseen kuperalta puolelta ja neste kuljetetaan solmukkeen koveran pinnan portin kautta ulos. Solmuke sisältää paljon epätäydellistä sidekudosväliseinää, jossa on lymfosyyttiryhmiä. Imusolmukkeissa on follikkeleita eli keräsiä, jotka koostuvat eri kypsyysvaiheen lymfosyyteistä. Imusolmukkeissa on myös poukamia eli soluvälitiloja, joissa imuneste kulkee. (Niensted ym. 2009.) Kuvassa 58 on esimerkki kudoksesta.



Kuva 58. Imusolmuke 40x (H&E).

4.4.2 Perna

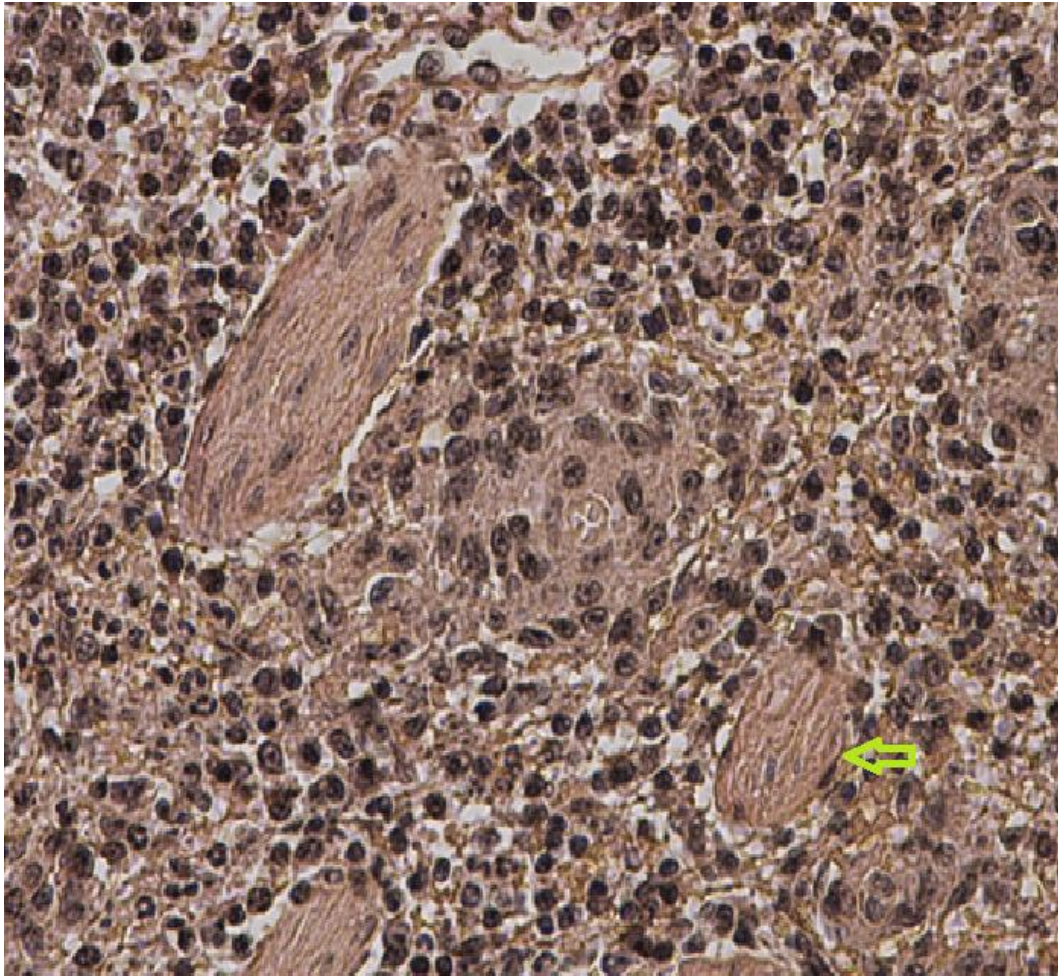
Pernakudos (kuva 59) sisältää punaista sekä valkoista ydintä. Valkoista ydintä on enemmän ja sitä on erityisesti pernan valtimoiden ympärillä. Pernan laskimojen ympärillä on punaista ydintä, joka koostuu syöjäsoluista. (Niensted ym. 2009.)



Kuva 59. Perna 40x (H&E).

4.4.3 Kateenkorva

Kateenkorvassa (kuva 60) on uloimpana kuorikerros ja sisempänä medulla eli ydin, joka yhdistää kateenkorvan lohkoja. Kateenkorvan ympärillä on sidekudoksinen kotelo, josta lähtee sidekudosseinämiä ytimeen asti. Verisuonet kulkevat väliseinämissä. Medullassa näkyy ikääntyneitä epiteelisoluja pyöreinä keräytyminä, niitä nimitetään Hassalin kappaleiksi, joiden tarkoitus on tuottaa esimerkiksi tymosiinia. Kateenkorvassa oleva parenkyymi on muodostunut enimmäkseen kypsyvistä T-soluista ja epiteelisoluista. (Solunetti 2006.)



Kuva 60. Kateenkorva 40x (vG). Nuoli osoittaa Hassalin kappaletta.

5 TAVOITE JA TARKOITUS

Histologian opintojaksolla on ollut opetuskäytössä opinnäytetyönä tehty materiaali, jossa on kerrottu histologisen näytteen prosessi. Nyt tehtävän opinnäytetyön tarkoitus oli tuottaa oppimateriaali, joka sisältää teoriaa ja jossa on aikaisempaan oppimateriaaliin verrattuna enemmän kuvia histologisesta prosessista, yleisimmistä värjäyksistä sekä peruskudoksista. Tehdyn oppimateriaalin tavoitteena oli parantaa opiskelijoiden oppimista.

6 OPINNÄYTETYÖN KÄYTÄNNÖN TOTEUTUS

6.1 Oppimateriaalin tekeminen

Opinnäytetyön aihe saatiin syksyllä 2012 Turun ammattikorkeakoulun bioanalytiikan koulutusohjelmalta. Kevään 2013 aikana kirjoitettiin histologiseen prosessiin ja peruskudoksiin liittyvät teoriat. Silloin myös kuvattiin Turun ammattikorkeakoulun mikroskooppikameralla kuvat kudoksista opetuskäytössä olleista näytelaseista. Oppilaitoksen tiloissa myös valokuvattiin valamista, värjäämistä ja mikrotomilla leikkaamista. Osa valamis- ja leikkaamisprosessissa otetuista valokuvista ja mikroskoopilla otetuista valokuvista oli patologian opettaja Sanna Virtasen kuvaamia. Lisäksi kuvattiin Tykslab:issa kudoskuljetin, mikrotomeja, värjäyslaite ja näytteen pieniminen.

Oppimateriaaliin liittyvän teorian kirjoittaminen oli haastavaa, sillä olemassa oli jo aikaisempaa oppimateriaalia histologian prosessista ja kudoksista, mutta haluttiin uudistaa niitä. Teoriaan on käytetty anatomian sekä histologian prosessiin liittyvää kirjallisuutta.

Histologiset prosessin valokuvaaminen ei ollut aina helppoa kuvattavien asioiden pienuuden takia, esimerkiksi kudosleikkeen saaminen kuvaan vaati useamman oton, mutta itse prosessi oli tuttu. Kudoksien kuvaaminen mikroskooppikameralla oli haastavampaa, sillä aikaisemman histologian kurssin opetusmateriaaliin ei kuulunut eri kudoksien tunnistamista. Patologian opettaja kommentoi

otettuja kuvia ja tarvittaessa otettiin uudet kuvat, jos kuva ei ollut tarpeeksi havainnollistava tai se oli otettu väärästä kohtaa.

6.2 Metodiset ratkaisut

Toiminnallisessa opinnäytetyössä pyritään esimerkiksi ammatilliseen käytännön toiminnan opastamiseen ja konkreettisena tuotteena voi olla esimerkiksi kirja. Jos opinnäytetyön toiminnallisessa osuudessa on tekstiä, kirjoitettaessa on mietittävä tekstin sisältö, tavoite sekä viestintätilanne kohderyhmän mukaan. Hankittaessa tietoa on oltava lähdekriittinen ja kerrottava, kuinka varmistutaan aineiston luotettavuudesta ja oikeellisuudesta. (Vilkka & Airaksinen 2004.)

Raportissa kerrotaan, miksi, mitä sekä miten asioita on tehty, millainen työprosessi oli ja millaisia tuloksia ja johtopäätöksiä on saatu. Prosessia, tuotosta ja oppimista pitää arvioida. Lukijan pitää pystyä arviomaan raportin avulla opinnäytetyön onnistuminen. Raportissa pitää käyttää yleisiä tutkimusviestinnällisiä keinoja, kuten lähteitä ja merkitäntätapoja, viitekehysten käsitteitä sekä argumentointia eli perustella tehdyt valinnat ja ratkaisut. Tekstin pitää olla myös asiatyylisiä ja sanavalintojen oikeita sekä aika- ja persoonamuotojen johdonmukaisia. (Vilkka & Airaksinen 2004.)

Työn tuloksena oli oppimateriaali, joka on sähköisessä muodossa Word-tiedostona, josta se on helppo tulostaa paperille. Tarkoituksena oli kuvata historian prosessi, yleisimmät värjäykset ja kudokset sekä kertoa oleellista teoria-tietoa. Prosessin kuvaamiseen käytettiin kameraa sekä mikroskooppikameraa värjäyksiä varten. Käytetty tieto oli peräisin alan lähdekirjallisuudesta ja tietokannoista ja niihin viitattiin asianmukaisesti. Raportoinnissa noudatettiin edellä asetettuja vaatimuksia, kuten kerrottiin työprosessi ja perusteltiin omat valinnat.

6.3 Tutkimusetiikka

Tutkimusetiikalla tarkoitetaan sitä, että noudatetaan hyvää tieteellistä käytäntöä ideointivaiheesta alkaen tutkimustuloksien tiedotukseen. Tiedonhankinta- ja tutkimusmenetelmien on oltava tiedeyhteisön hyväksymiä eli tutkijan on käytettävä esimerkiksi oman alansa tieteellistä kirjallisuutta ja muita asianmukaisia tietoläh-

teitä sekä analysoitava omaa tutkimustaan. Tuloksien pitää luoda uutta tietoa tai esittää, kuinka vanha tieto hyödynnetään tai yhdistetään uudelleenlaisesti. Tutkijan on oltava rehellinen, huolellinen ja tarkka tehdessään tutkimustyötä ja esittäessään tutkimuksen tuloksia. Raportointia ei saa tehdä harhaanjohtavasti tai puutteellisesti. Huolellisuutta on noudettava kertoessa käytettyjä menetelmiä ja tutkimuksen puutteet on mainittava. Muiden tekemälle töille on annettava niille kuuluva arvo, kun tutkija käyttää niitä tutkimuksessaan. Tekstejä ei saa lainata luvattomasti eli esittää omanaan, vaan ne on merkittävä lähdeviittein. (Vilkkä 2005; Hirsjärvi ym. 2009.) Opinnäytetyössä käytettiin asianmukaisia tietolähteitä sekä niiden viittaukset mainittiin. Tehty työ raportoitiin yksityiskohtaisesti ja kriittisesti.

Tutkimuksessa pitää huolehtia anonymiteetistä eli henkilöllisyyden salaamisesta (Mäkinen 2006). Kuvauksissa käytettävissä näytteissä ei mainittu henkilötietoja, joten anonymiteetti turvattiin. Lainsäädännössä on määritelty, että ihmisen etu ja hyvinvointi on aina tärkeämpää kuin tiede tai yhteiskunnan etu (Laki lääketieteellisestä tutkimuksesta 9.4.1999/488), joten työtä varten ei kerätty uutta materiaalia asiakkailta, vaan kuvattavat lasit ovat olleet jo aikaisemmin opetuskäytössä.

7 OPINNÄYTETYÖN TUOTOKSEN TARKASTELU

Opinnäytetyön tuotoksena oli sähköisessä muodossa oleva oppimateriaali. Siinä käytiin läpi teoriassa tietoa histologisesta prosessista ja peruskudoksista sekä esitettiin ne kuvin. Tuotoksessa pyrittiin esittämään tärkeintä teoriaa bioanalyttikko-opiskelijoille. Histologisista värjäyksistä valittiin teoriaan H&E, vG ja PAS, koska ne ovat paljon käytettyjä värjäyksiä laboratorioissa ja histologian opintojaksolla käytössä olevissa näytelaseissa on käytetty niitä. Histologinen prosessi haluttiin kertoa yleisellä tasolla eikä tietyn laboratorion käytäntöjen mukaan.

Teoriassa käytettiin suomen- ja englanninkielisiä lähteitä. Mukana oli monia uusia lähteitä, mutta osa lähdemateriaaleista oli yli kymmenen vuotta vanhaa, toisaalta tietyt asiat eivät muutu alalla. Englanninkielisen lähdemateriaalin suomentamisessa saattoi tulla virheitä, joten se heikentää työn luotettavuutta. Myös kun asia haluttiin kertoa mahdollisimman lyhyesti, voi syntyä väärinymmärryksiä lukijalle. Toisaalta ohjaava opettaja tarkasti ja korjasi opinnäytetyötä, mikä lisää luotettavuutta. Samoin otetut kuvat kudoksista ja histologisesta prosessista olivat ohjaavan opettajan hyväksymiä.

Oppimateriaalin luettavuuden helpottamiseksi lähdeviitteet merkittiin numeroin tekstiin ja tieteellisten käytäntöjen mukaisesti lähdeluetteloon. Leipäteksti ja otokset laitettiin eri fonteilla, jotta teksti näyttäisi mielenkiintoisemmalta. Peruskudoksissa esitettiin nuolilla tärkeät kohdat, jotta aiheeseen perehtymättömätkin pystyisivät nopeasti hahmottamaan esimerkiksi kuutioepiteelin kuvasta. Oppimateriaaliin ei laitettu kappaleiden jälkeen kysymyksiä tai tiivistelmiä edistämään opiskelijoiden oppimista, koska käsiteltävät kappaleet olivat niin lyhyitä.

Oppimateriaalia olisi pitänyt testata, jotta sitä olisi voinut parantaa. Opinnäytetyön tekijän aikataulun takia sitä ei kuitenkaan tehty.

8 POHDINTA

Opinnäytetyö oppimisprosessina lisäsi tietouttani peruskudoksista ja niiden ulkonäöstä. Opinnäytetyössä oli haastavaa tietää, mitä halutaan muuttaa jo nykyisestä materiaalista, koska tietyt asiat pitää opettaa oppijaksolla ja asiat pitäisi esittää mahdollimman selkeästi. Englanninkielisen histologian tekstin lukeminen helpottui opinnäytetyön tekemisen ansiosta. Jatkotutkimusaiheina nyt tehtyä työtä voisi kehittää edelleen opetuksessa huomattujen asioiden mukaan.

LÄHTEET

Aho, H. 1999. Histologiset menetelmät laboratoriossa. Turku: Turun yliopisto, kliinis-teoreettinen laitos, patologia.

Gamble, M. 2008. The Hematoxylin and Eosin. Teoksessa Bancroft, J. & Gamble, M. Theory and Practice of Histological Techniques. 6. painos. Churchill Livingstone: Elsevier, 121-135.

Grizzle, W.; Fredenburg, J. & Myers, R. 2008. Fixation of Tissues. Teoksessa Bancroft, J. & Gamble, M. Theory and Practice of Histological Techniques. 6. painos. Churchill Livingstone: Elsevier, 53-75.

Hellström, M. 2008. Sata sanaa opetuksesta Keskeisten käsitteiden käsikirja. Juva: WSOY.

Hirsjärvi, S., Remes, P., Sajavaara, P. 2009. Tutki ja kirjoita. 15. painos. Helsinki: Kustannusosakeyhtiö Tammi.

Horobin, R. 2013. How histological stains work. Teoksessa Suvarna, K., Layton, C. & Bancroft, J. (toim.) Bancroft's theory and practice of histological Techniques. 7. painos. Churchill Livingstone: Elsevier, 157-172.

Kallioinen, M. & Stenbäck, F. 2012. Ihon rakenne. Teoksessa Mäkinen, M.; Carpén, O; Kosma, V-M, Lehto, V-P; Paavonen, T. & Stenbäck, F. (toim.) Patologia. 1. painos. Helsinki: Duodecim, 943 - 944.

Karhumäki, E.; Lehtonen, M.; Nieminen, K. & Syrjäkallio-Ylitalo, M. 2007. Päästä varpaisiin Ihmisen anatomia ja fysiologia. 1. - 2. painos. Helsinki: Edita Prima.

Kiernan, J. 1999. Histological & Histochemical Methods Theory & Practice. 3. painos. Oxford: Butterworth-Heinemann.

Kothmaier, H; Rohrer, D.; Stacher, E.; Quehenberger, F.; Becker, K-F & Popper, H. 2011. Comparison of Formalin-Free Tissue Fixatives A Proteomic Study Testing Their Application for Routine Pathology and Research. Arch Pathol Lab Med. 2011;135, 744–752.

Kustannus Oy Duodecim 2012. Lääketieteen termit. Viitattu 28.11.2012 www.terveysportti.fi > lääketieteen sanakirja > histologia.

Kustannusosakeyhtiö Perhemediat Oy 2010. Anatomia. Tiittula, R. Suomenkielinen laitos. Helsinki: Kustannusosakeyhtiö Perhemediat Oy.

Laki lääketieteellisestä tutkimuksesta 9.4.1999/488.

Mäkinen, M. & Lehto, V-P. 2012. Patologian kaksoisluonne ja integratiivinen lääketiede. Teoksessa Mäkinen, M.; Carpén, O; Kosma, V-M, Lehto, V-P; Paavonen, T. & Stenbäck, F. (toim.) Patologia. 1. painos. Helsinki: Duodecim, 11-12.

Mäkinen, M. 2012. Näytteiden käsittely laboratoriossa. Teoksessa Mäkinen, M.; Carpén, O; Kosma, V-M, Lehto, V-P; Paavonen, T. & Stenbäck, F. (toim.) Patologia. 1. painos. Helsinki: Duodecim, 1127-1130.

Mäkinen, O. 2006. Tutkimusetiikan ABC. Helsinki: Kustannusosakeyhtiö Tammi.

Niensted, W. & Kallio, S. 2005. Luut ja ytimet – ihmiselimestä lyhyesti. 8. - 9. painos. Helsinki: WSOY.

Niensted, W.; Hänninen, O.; Arstila, A.; Björkqvist, S-E. 2009. Ihmisen fysiologian ja anatomia. 18. uudistettu painos. Helsinki: WSOY.

Oulun yliopisto 2007a. Oppimateriaalin kehittäminen. Viitattu 23.11.2012
<http://www.oulu.fi/opetkeh/kehtoimi/oppimat/index.html>.

Oulun yliopisto 2007b. Oppimateriaalia suunnitellessasi mieti. Viitattu 23.11.2012
<http://www.oulu.fi/opetkeh/kehtoimi/oppimat/ohje1.html>.

Solunetti 2006. Kateenkorva. Viitattu 7.4.2013
http://www.solunetti.fi/fi/histologia/kateenkorva_1/.

Spencer, L. & Bancroft, J. 2013. Microtomy: Parafin and frozen. Teoksessa Suvana, K., Layton, C. & Bancroft, J. (toim.). Bancroft's theory and practice of histological Techniques. 7. painos. Churchill Livingstone: Elsevier, 125-139.

Spencer, L.; Bancroft, J. & Jones, W. 2013. Tissue processing and microarray. Teoksessa Suvana, K., Layton, C. & Bancroft, J. (toim.). Bancroft's theory and practice of histological Techniques. 7. painos. Churchill Livingstone: Elsevier, 105-125.

Sterchi, D. 2013. Bone. Teoksessa Suvana, K., Layton, C. & Bancroft, J. (toim.) Bancroft's theory and practice of histological Techniques. 7. painos. Churchill Livingstone: Elsevier, 317-352.

Stevens, A. & Lowe, J. 2005. Human Histology. 3. painos. Philadelphia: Elsevier Mosby.

Titford, M. & Horenstein, M. 2005. MD Histomorphologic Assessment of Formalin Substitute Fixatives for Diagnostic Surgical Pathology. Arch Pathol Lab Med. 2005;129, 502–506.

Uusikylä, K. & Atjonen, P. 2005. Didaktiikan perusteet. 3. uudistettu painos. Porvoo: WSOY.

Varsinais-Suomen sairaanhoitopiiri 2012. Patologian yksikön palvelut. Viitattu 22.4.2013
<http://www.tyks.fi/fi/618>.

Vierimaa, H. & Laurila, M. 2011. Keho Anatomia ja fysiologia. 1. - 2. painos. Helsinki: WSOYpro Oy.

Vilkkä, H. & Airaksinen, T. 2004. Toiminnallinen opinnäytetyö. 1. -2. painos. Helsinki: Kustannusosakeyhtiö Tammi.

Vilkkä, H. 2005. Tutki ja kehitä. Helsinki: Kustannusosakeyhtiö Tammi.

Yale Systems Cell Biology 2010. Neuron processes cartoon. Viitattu 17.5.2013
http://medcell.med.yale.edu/systems_cell_biology/nervous/images/neuron_processes_cartoon.jpg.

Young, B.; Lowe, J.; Stevens, A. & Heath, J. 2008. Wheater's Functional Histology – A Text and Colour Atlas. Churchill Livingstone: Elsevier.